



No drug is 100% safe
for all people in all
circumstances

Determinazione della relazione dose-effetto

Obiettivo degli studi di tossicità animali è determinare la relazione dose-effetto cioè la relazione tra le caratteristiche dell'esposizione e lo spettro degli effetti tossici.

A quale concentrazione si osserva l'effetto ?

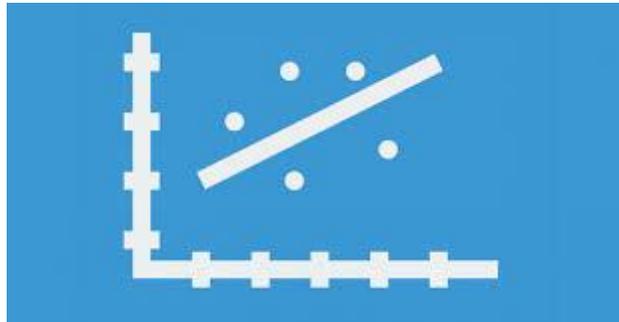
Il livello 'efficace' si raggiunge attraverso:

- Una singola esposizione (acuta e generalmente elevata) incidenti, avvelenamenti
- Esposizioni prolungate (basse dosi ripetute nel tempo non tossiche singolarmente effetti cumulativi)

Dose

Determines Whether a Chemical Will Be Beneficial or Poisonous

	Beneficial Dose	Toxic Dose
Aspirin	300 – 1,000 mg	1,000 – 30,000 mg
Vitamin A	5000 units/day	50,000 units/day
Oxygen	20% (Air)	50 – 80% (Air)



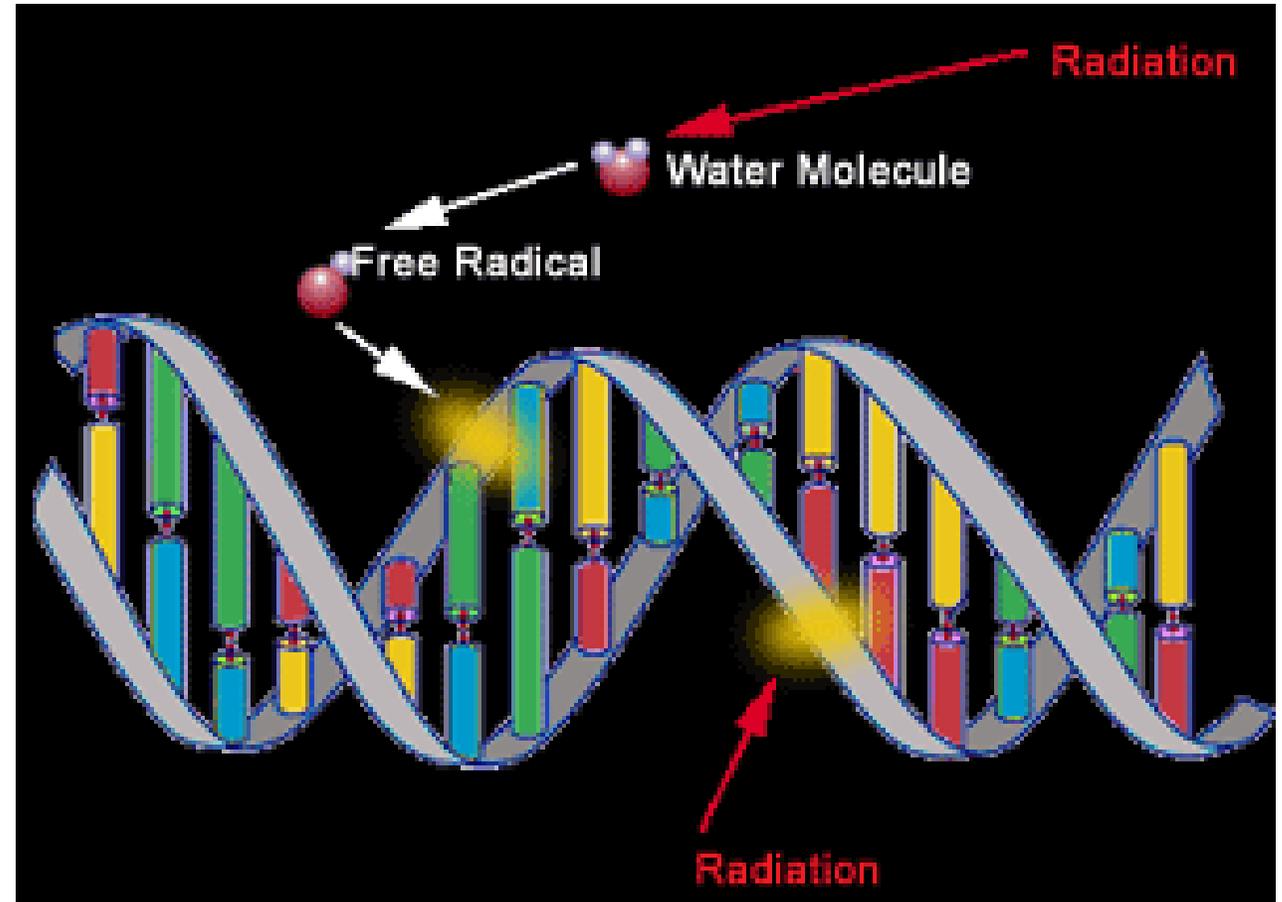
All Interactions
between
chemicals and
biological
systems follow
a
Dose-
Response
Relationship

Dose



Dose-Response Relationship

- A key concept in Toxicology is the **quantitative relationship** between the **concentration** of a xenobiotic in the body and the **magnitude** of the biological effect it produces.
- The magnitude of the effect of a xenobiotic is usually a function of the amount of xenobiotic to which a person is exposed (i.e., “The Dose Makes the Poison”).
- In any given population, there will be a **range of sensitivities** to a xenobiotic. It is extremely useful to know what is the average sensitivity of a population to a xenobiotic, and what the average dose required to elicit a toxic response will be.



Non dobbiamo mai dimenticare che



- "Tutte le sostanze sono dei veleni; non ne esiste una che non sia un veleno. La giusta dose differenzia un veleno da un rimedio"



"E' la dose che fa il veleno"

- Paracelsus 1493-1541

DEFINIZIONI

La tossicità di una sostanza viene espressa in base alle dosi che sono in grado di determinare un effetto indesiderato nell'animale

DMT (Dose Massima Tollerata): è definita anche "dose soglia" ed è la più alta dose che non induce alcun effetto, diretto o indiretto

MDT (Minima Dose Tossica): è la più bassa dose in grado di determinare un effetto tossico, ma non letale

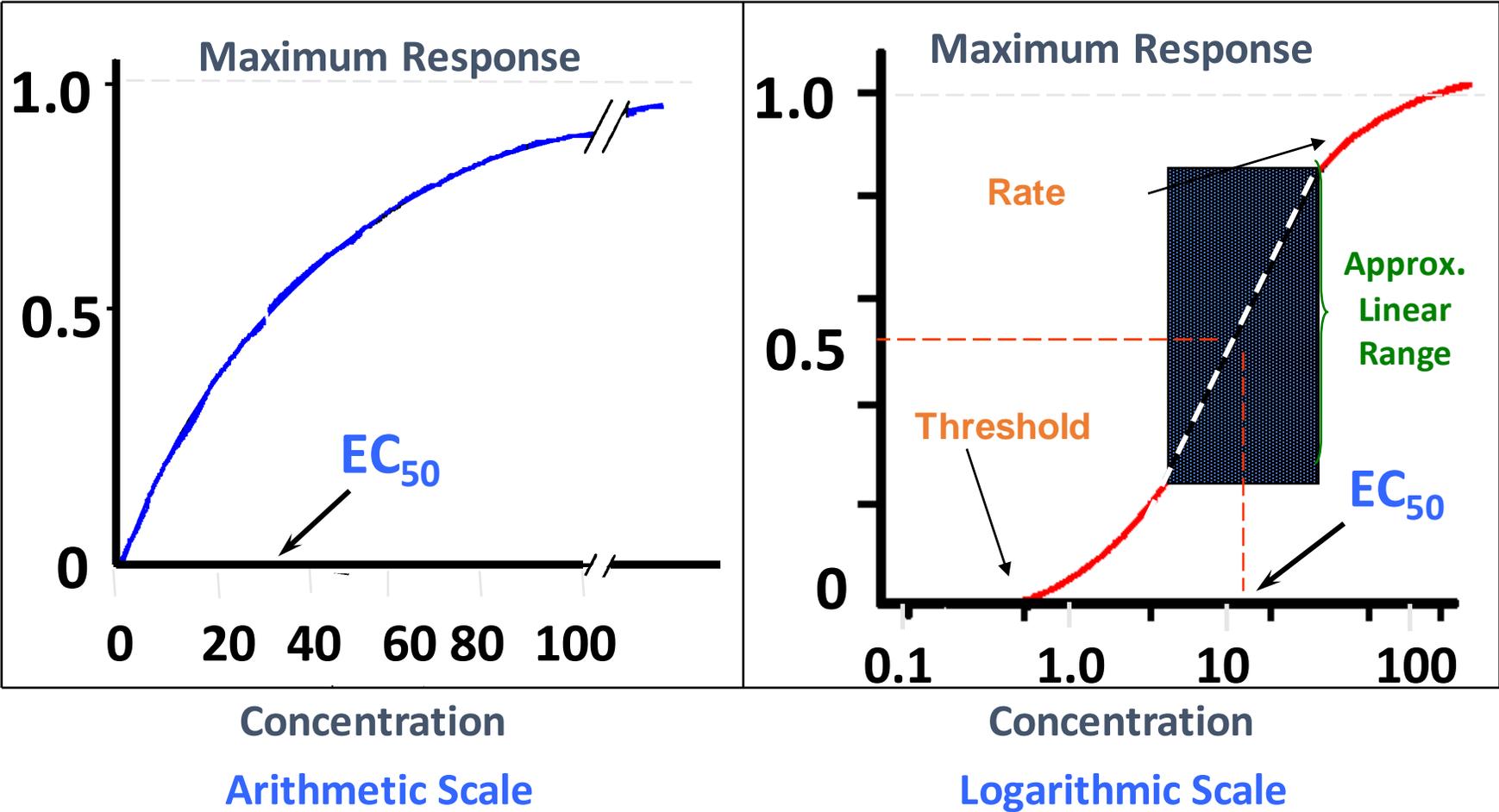
DL (Dose Letale): è la dose in grado di determinare la morte dell'animale, per convenzione, entro 24 ore dall'esposizione

PROBABILE DL50 PER OS NELL'UOMO

SOSTANZA	DL50 (mg/kg)	DEFINIZIONE
		Praticamente non tossiche (> 15 g/kg)
➤ Alcool etilico	10000	Leggermente tossiche (5-15 g/kg)
➤ Cloruro di sodio	4000	Moderatamente tossiche (0.5-5 g/kg)
➤ Fenobarbital	150	Altamente tossiche (50-500 mg/kg)
➤ Parathion	7	Estremamente tossiche (5-50 mg/kg)
		Super tossiche (< 5 mg/kg)
➤ Stricnina	2	
➤ Nicotina	1	
➤ D-tubocurarina	0.05	
➤ Tetrodotossina	0.01	
➤ TCDD	0.001	
➤ Tossina botulinica	0.00001	

Dose-Response Curves

“The Dose Makes the Poison”



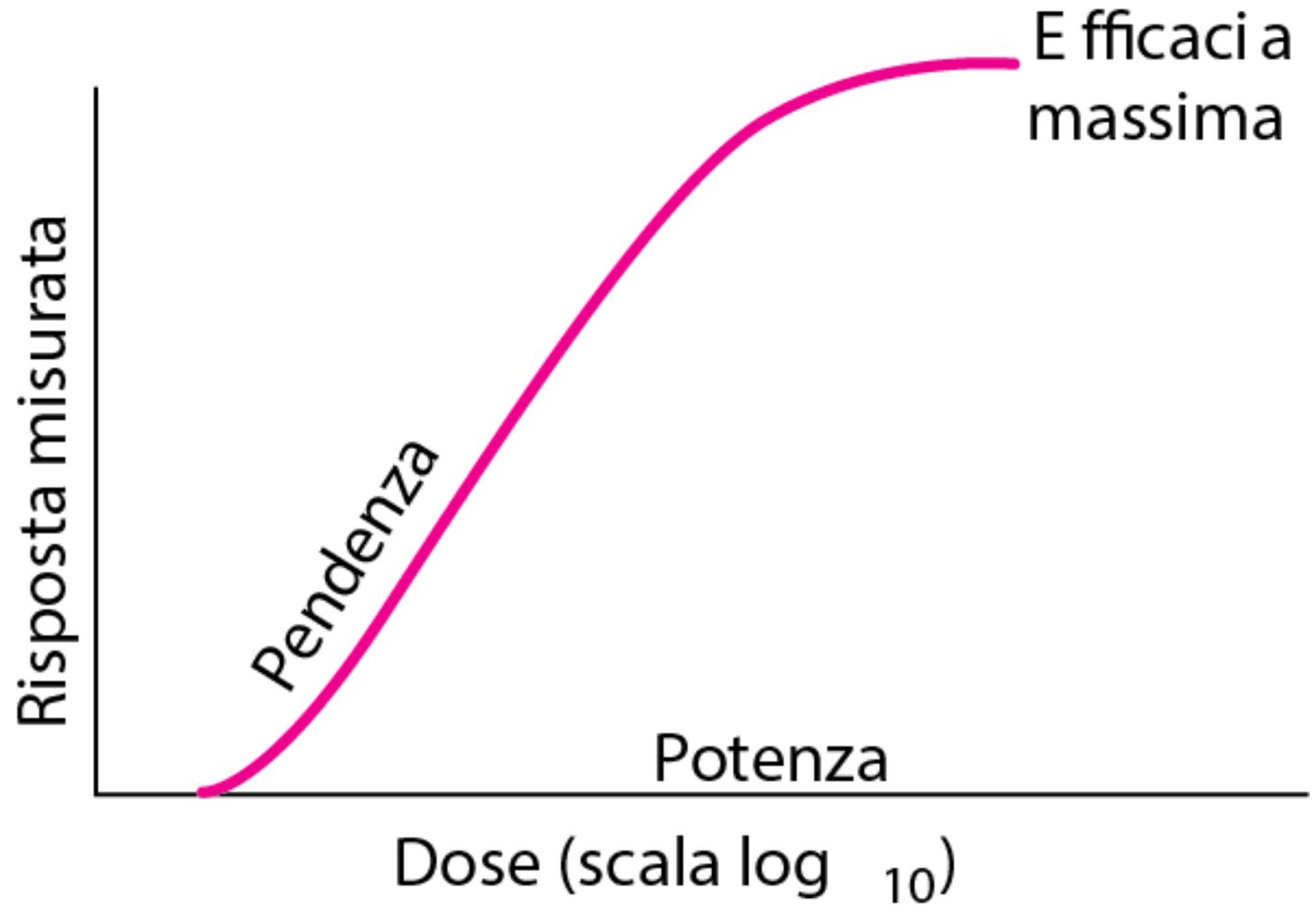
DL50 (Dose Letale 50): è la dose in grado di provocare la morte nel 50% degli animali trattati una sola volta

Nell'indicare la DL50 deve essere specificata anche la via di somministrazione, la specie animale ed eventualmente anche la razza e il sesso

La DL50 è indicativa della sola tossicità acuta e riferita all'effetto letale. Non dà indicazioni sugli effetti a lungo termine, per esposizioni ripetute, né su eventuali effetti mutageni, cancerogeni o teratogeni

Per le sostanze gassose assunte per via inalatoria o per i pesci si parla di CL50 (Concentrazione Letale 50) per la quale occorre specificare anche il tempo di esposizione

Come si
costruisce
una curva
dose
risposta?



La curva dose-risposta è tipicamente rappresentata come dose o funzione della dose (p. es., \log_{10} della dose) sull'asse delle X e come misura dell'effetto (risposta) sull'asse delle Y. Poiché un effetto farmacologico è funzione sia della dose sia del tempo, un grafico di questo tipo descrive la relazione dose-risposta indipendentemente dal tempo.

CURVE DOSE RISPOSTA

Come esprimere la relazione dose-risposta?

Se la risposta misurata è:

- del tipo 'tutto o nulla' (es. morte, comparsa di tumori) con curve dose-risposta quantali. In questi casi, si misura la frequenza di risposta alle diverse dosi, cioè la percentuale di soggetti in cui compare la risposta.
- un parametro continuo (es.: peso di un organo, glicemia), si può esprimere l'intensità della risposta in funzione della dose con curve graduali.

Relazione dose- effetto

Dal punto di vista pratico :

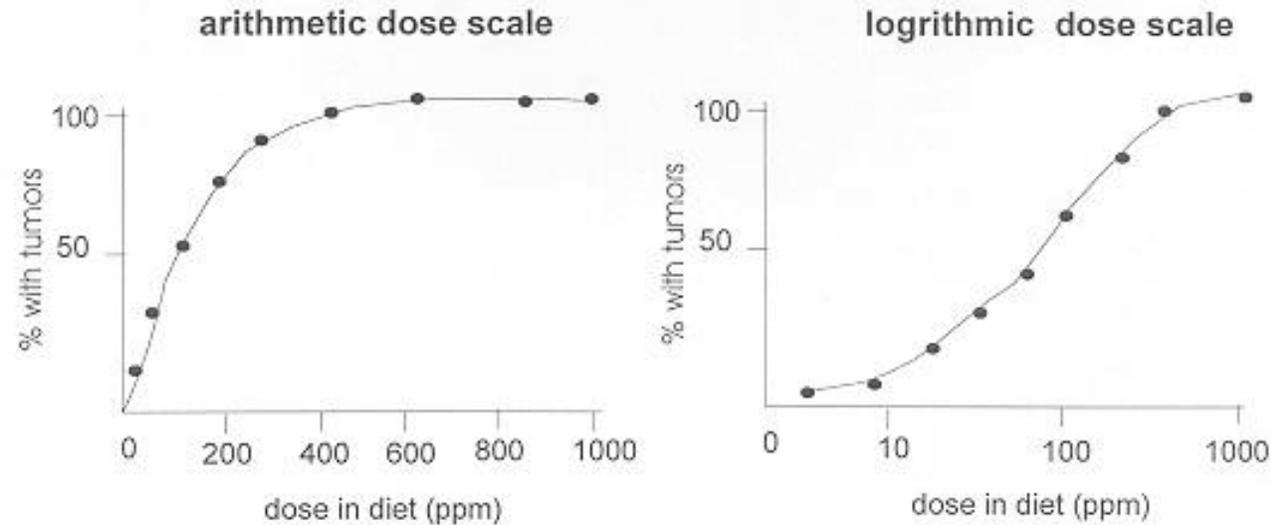
1. Le relazioni dose-risposta in una popolazione sono per definizione, di natura *quantale* o "tutto o nulla". Viene identificato uno specifico effetto e si determina la dose necessaria per produrre l'effetto in ogni singolo individuo della popolazione.
2. Le relazioni dose-risposta in un individuo sono di natura *graduale* o *su scala continua* perché l'effetto è continuo in un determinato intervallo di dosi. Descrive la risposta di un individuo a diverse concentrazioni della sostanza. E' caratterizzato da un aumento della concentrazione dipendente dell'intensità della risposta.

Relazione dose- effetto

Sebbene la distinzione in relazioni dose-risposta quantali (riferite alla popolazione) e gradualali (riferite all'individuo) siano utili, concettualmente i due tipi di risposta sono identici. In entrambi i casi le risposte vengono riportate sull'asse delle ordinate e possono essere il grado di risposta di un individuo o di un sistema o la frazione di popolazione che risponde mentre l'intervallo delle dosi è riportato sull'asse delle ascisse.

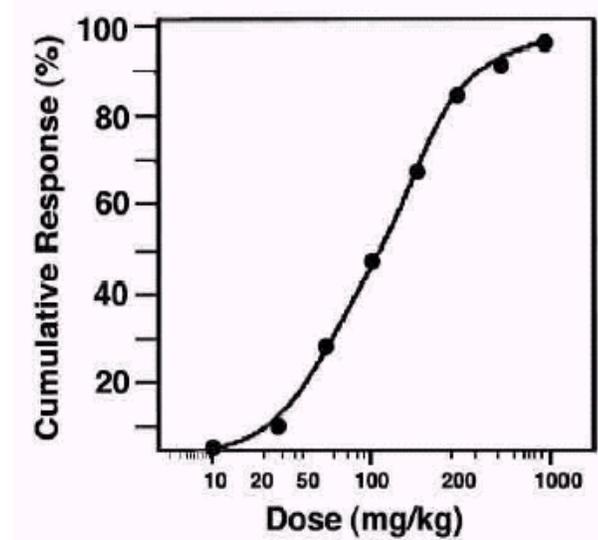
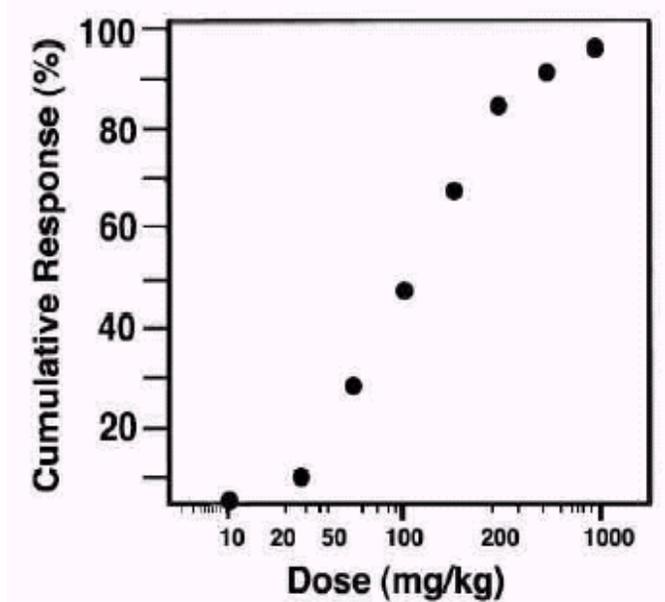
Curve dose-risposta quantali

Riportando in un grafico cartesiano la % di soggetti che rispondono in funzione della dose si ottiene una **curva dose-risposta cumulativa**; cioè, ad ogni dose corrispondono non solo i soggetti che rispondono **solo** a quella dose, ma anche i soggetti che rispondono a dosi più basse.



Trasformando il grafico in un grafico semilogaritmico, riportando cioè in ordinata il logaritmo della dose, si ottiene in genere una curva sigmoide.

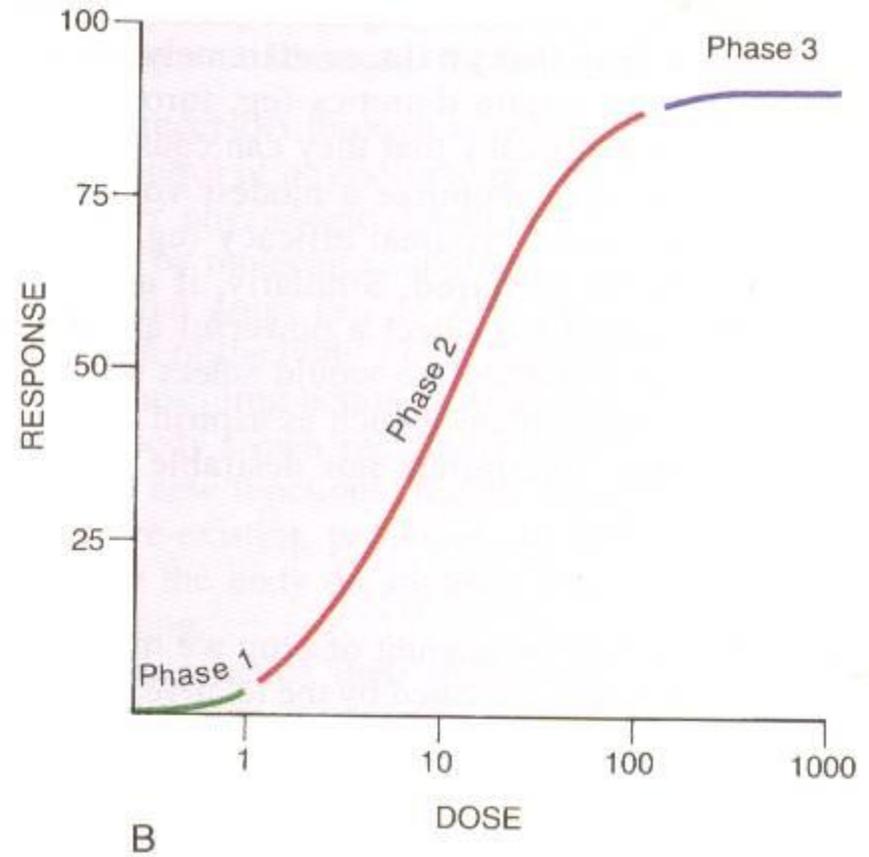
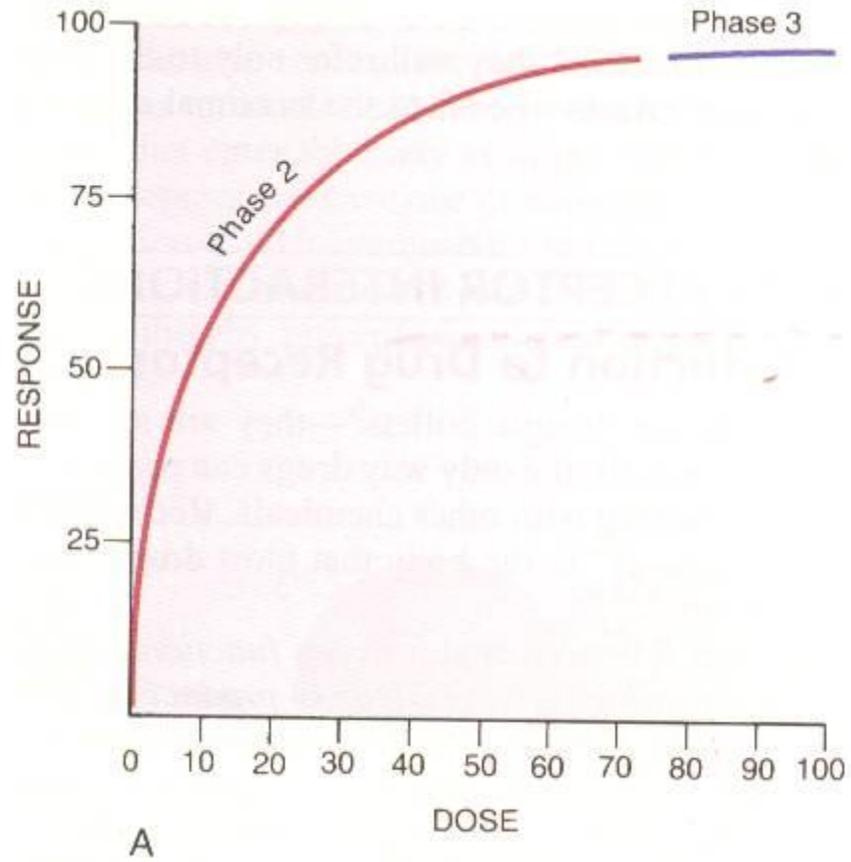
Curve dose-risposta quantali



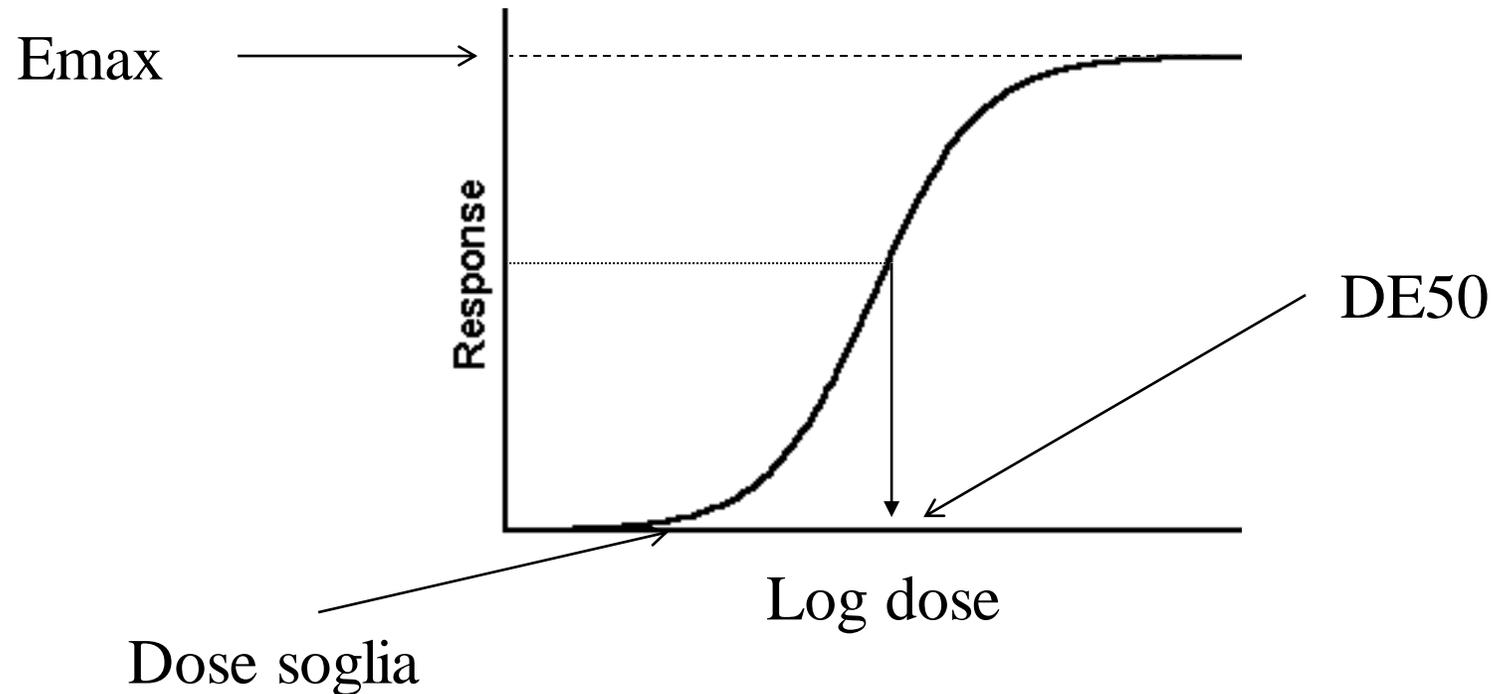
Here is the experimental data from 10 mice exposed to each of eight drug doses (80 mice total in the experiment). Each datapoint represents the percent mortality at each dose. In the first, low dose we see a 0% response (in other words 0 out of 10 mice succumbed due to the exposure). At higher and higher doses, there was an increase in the % response.

If we fit a line to these datapoints we see that there is a sigmoid shape to the data. This is typical for dose response graphs. Note that the curve is a “best fit” line; it does not necessarily go through each and every datapoint. What I’d like to point out is that the mid-range experimental dose groups responded in a linear fashion with respect to the dose (I am referring to the responses between 16 and 84%).

Curve dose-risposta graduale



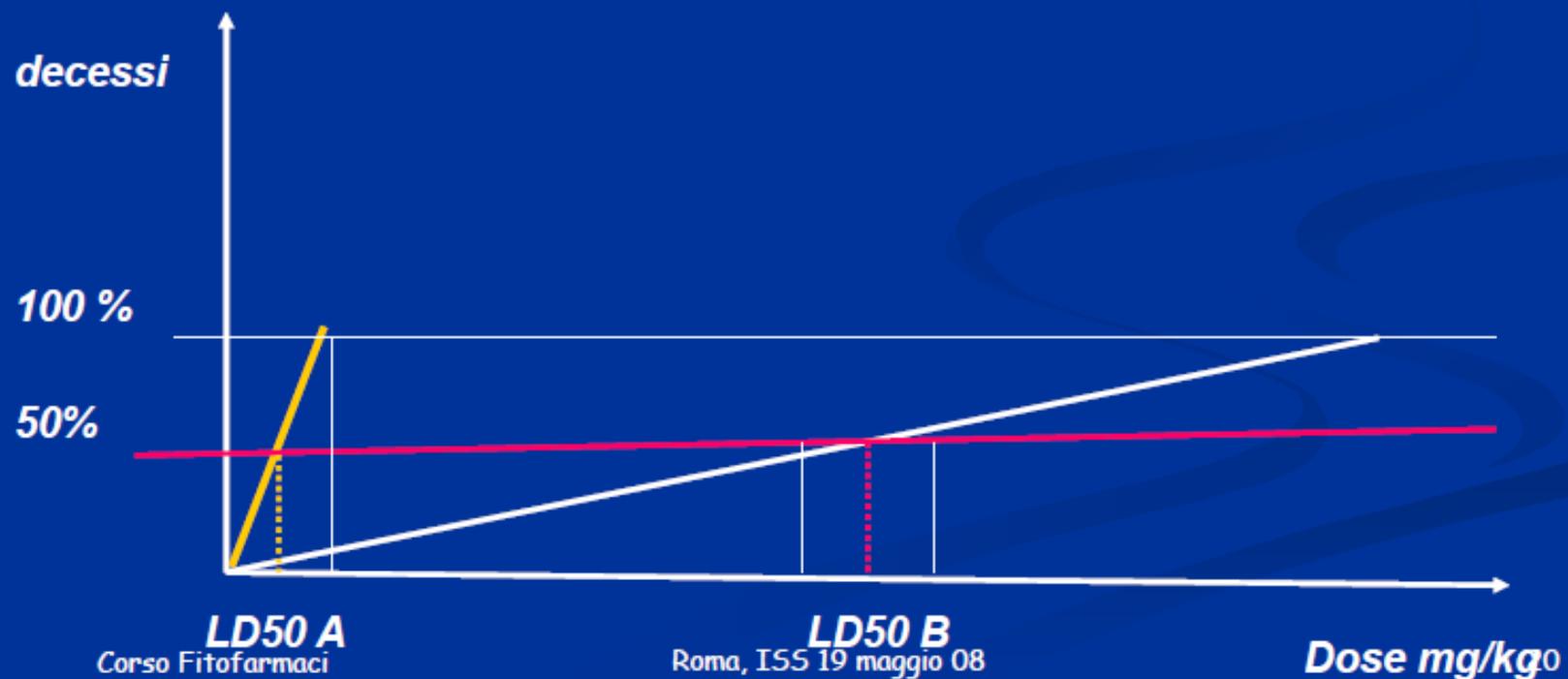
I **parametri caratterizzanti** la relazione dose-risposta sono: la risposta massima (E_{max}); la dose che produce un effetto pari al 50% di E_{max} (**DE50**); la minima concentrazione alla quale si ha un effetto (**dose soglia**); la dose soglia e la DE50 sono una misura della potenza della sostanza.



L'effetto di un farmaco è proporzionale al numero di recettori occupati, quindi aumenta all'aumentare della dose. E E_{max} si ha con tutti i recettori occupati

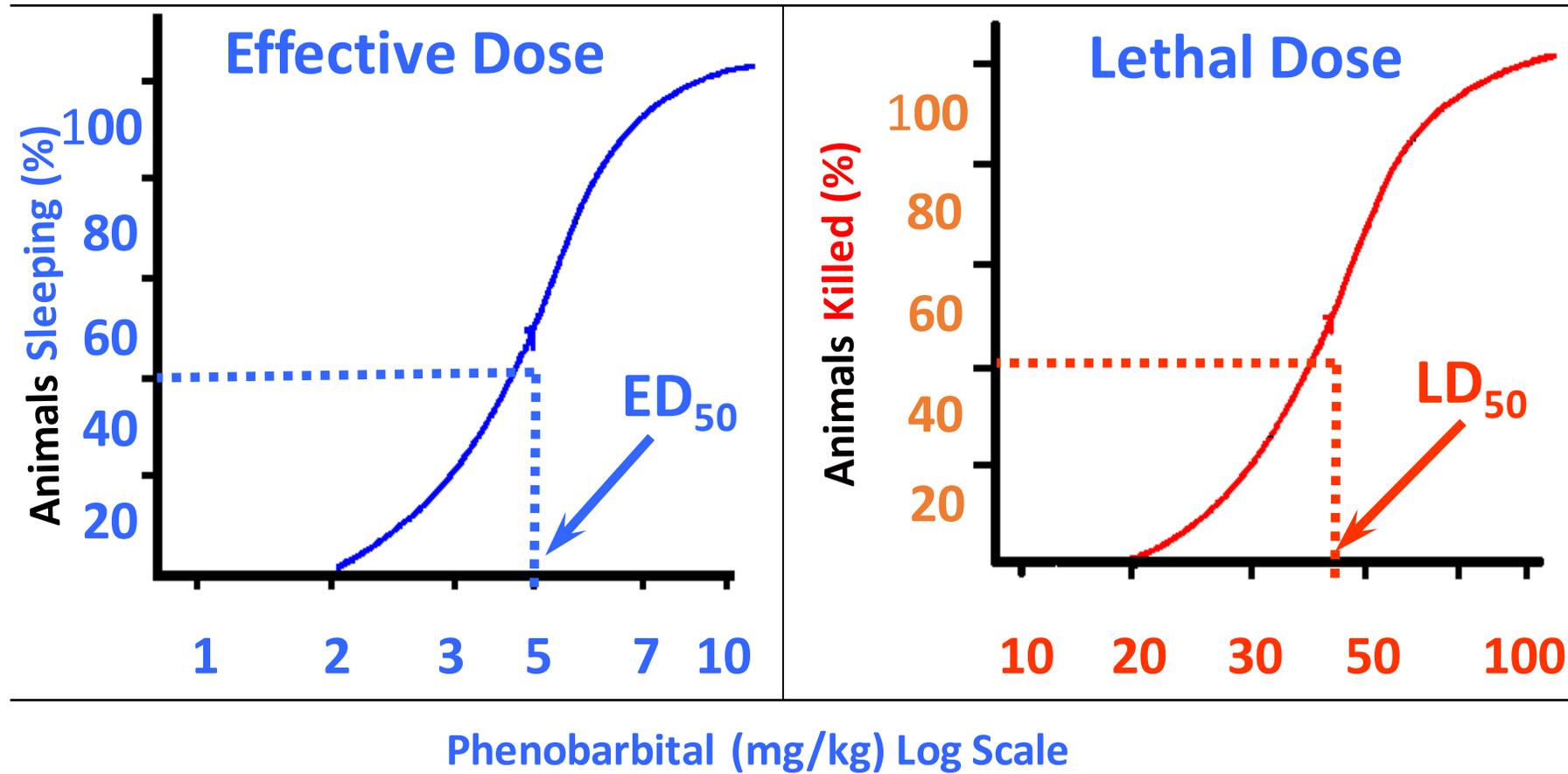
Relazione dose-effetto

- La LD_{50} e/o la ED_{50} sono il primo esempio di curva dose-risposta espressione della relazione dose-effetto.
- Importanza della Forma della curva/ Pendenza della retta. (curva/retta ripida: piccole variazioni di concentrazione determinano grandi differenze nella risposta)

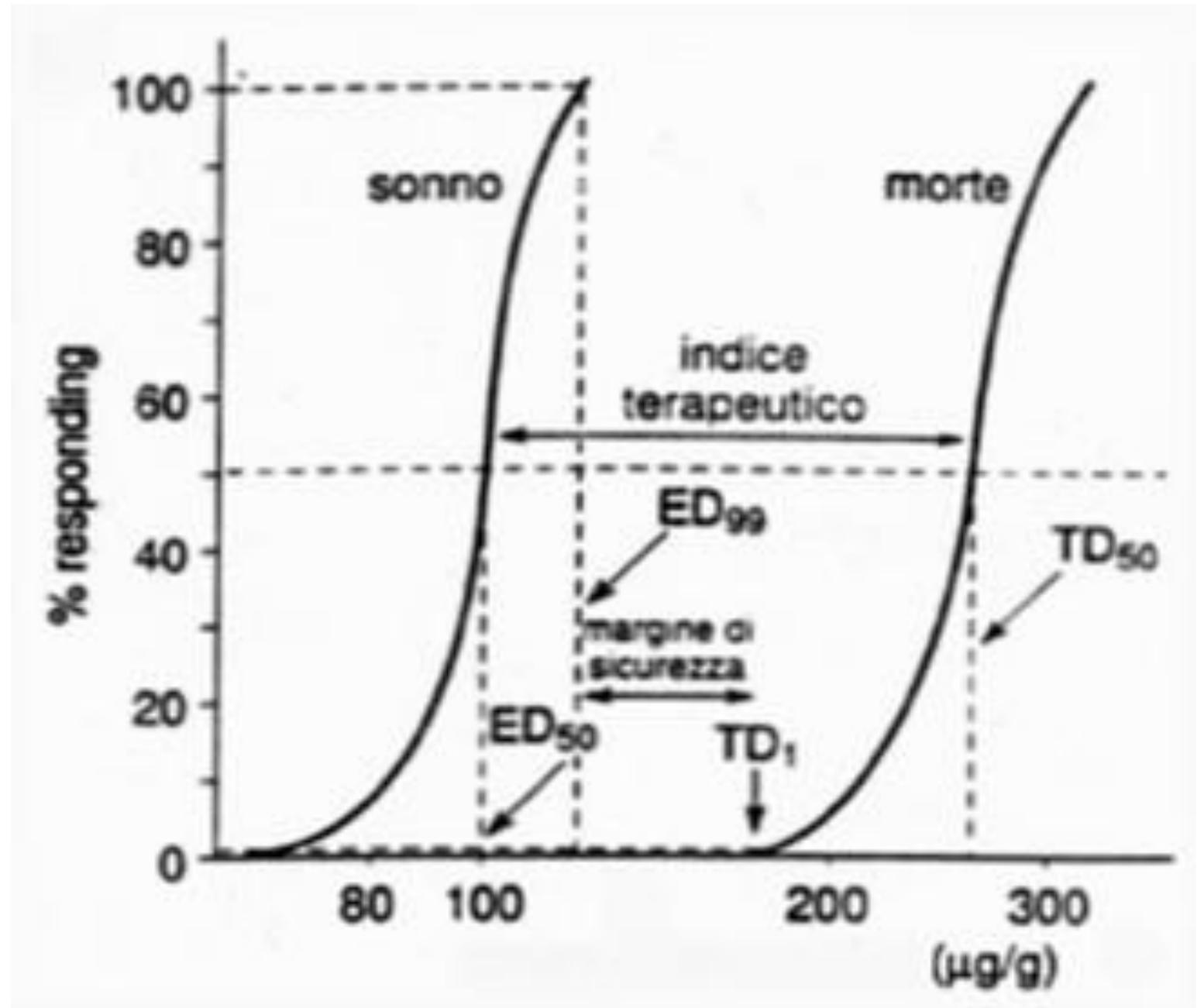


Dose-Response Relationship

"The Dose Makes the Poison"



Indice terapeutico e margine di maneggevolezza



INDICE TERAPEUTICO

Rapporto tra il valore di DL50/DE50

Alto IT farmaco sicuro(antibiotici)

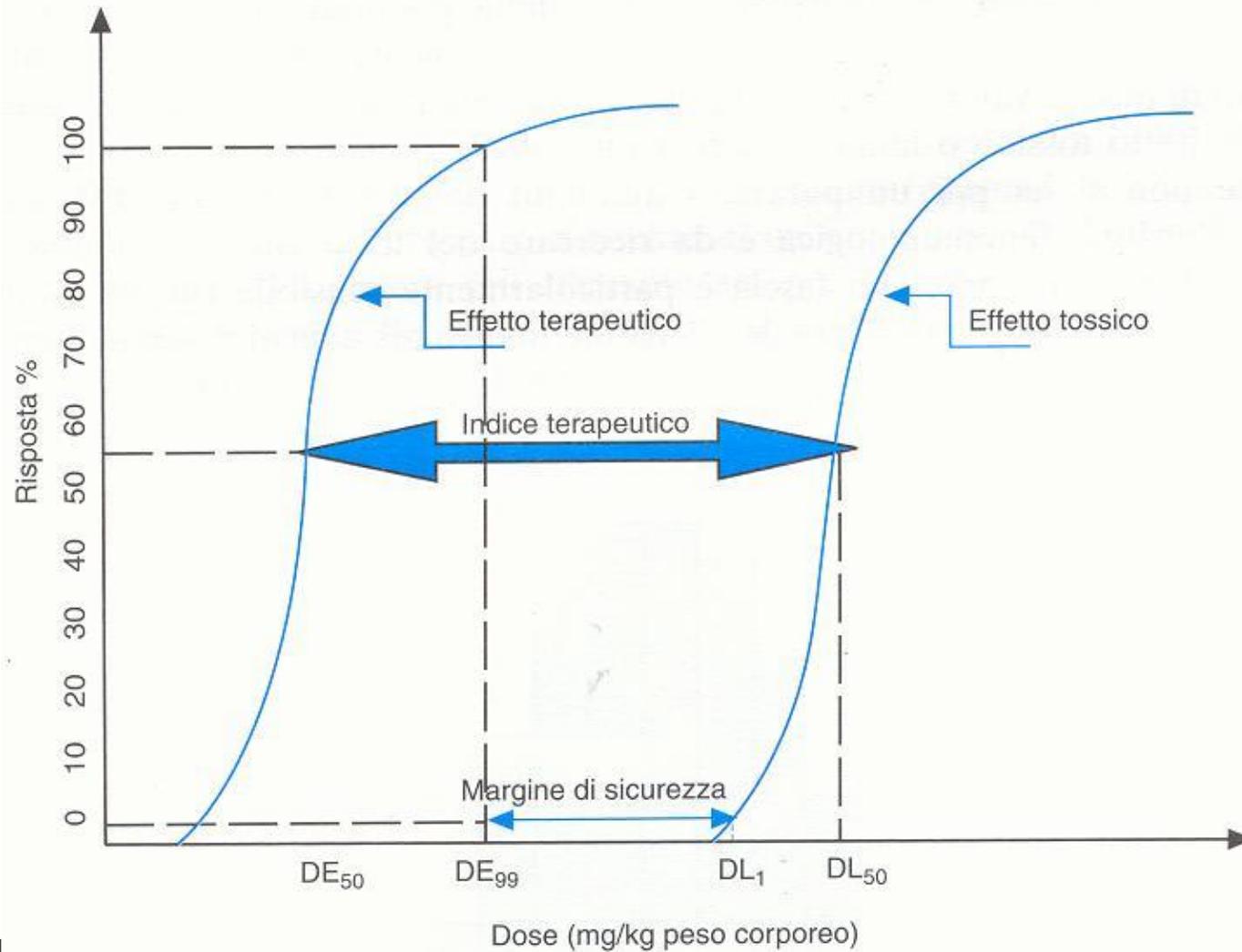
Se il valore di IT è elevato significa che la DL50 è molto maggiore della DE50, cioè agli effetti terapeutici non sono legati effetti tossici. L'IT non dà indicazioni relativamente alla pendenza della curva dose-risposta e possibili sovrapposizioni tra effetti tossici ed effetti terapeutici. Queste informazioni si ottengono dalle curve dose-risposta.

MARGINE DI SICUREZZA

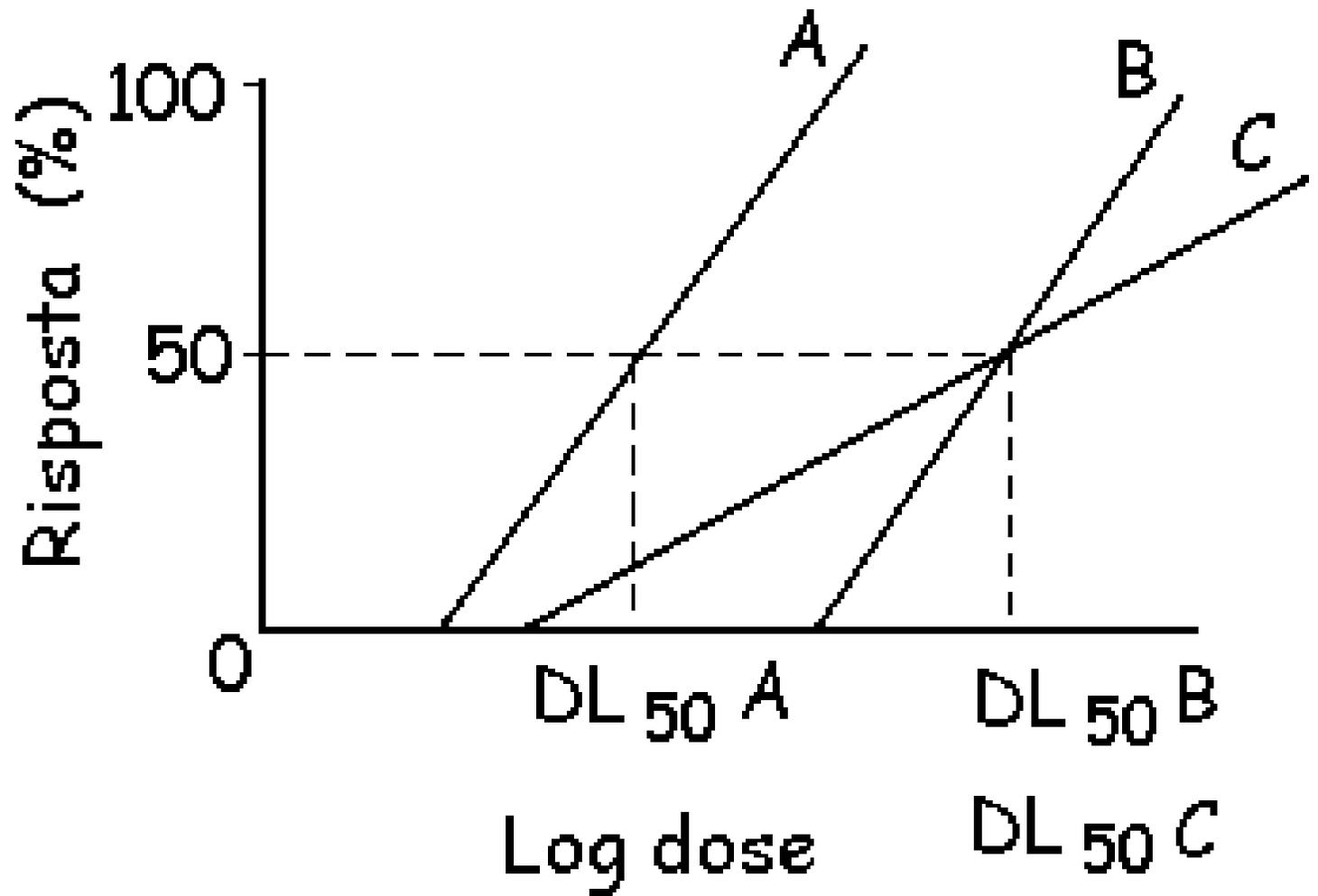
- espresso come il quoziente tra la DL1, cioè la dose letale sull'1% del sistema biologico studiato e la DE99, cioè la dose efficace nel 99% del sistema studiato:
- **Margine di sicurezza = $DL1/DE99$**

$$\text{Indice terapeutico} = DL_{50}/DE_{50}$$

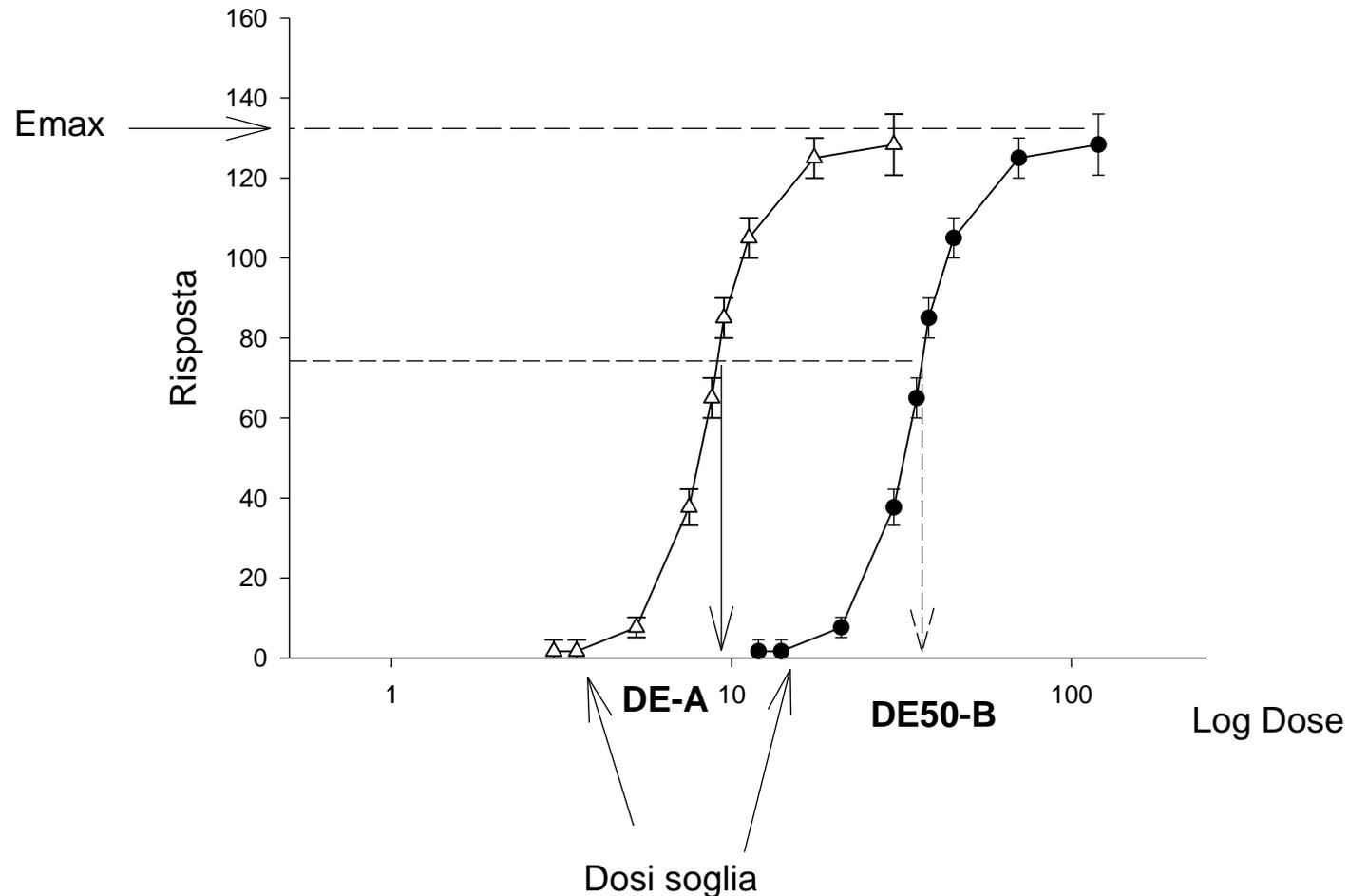
$$\text{Margine di sicurezza} = DL_1/DE_{99}$$



Esempi di
curve dose-
risposta

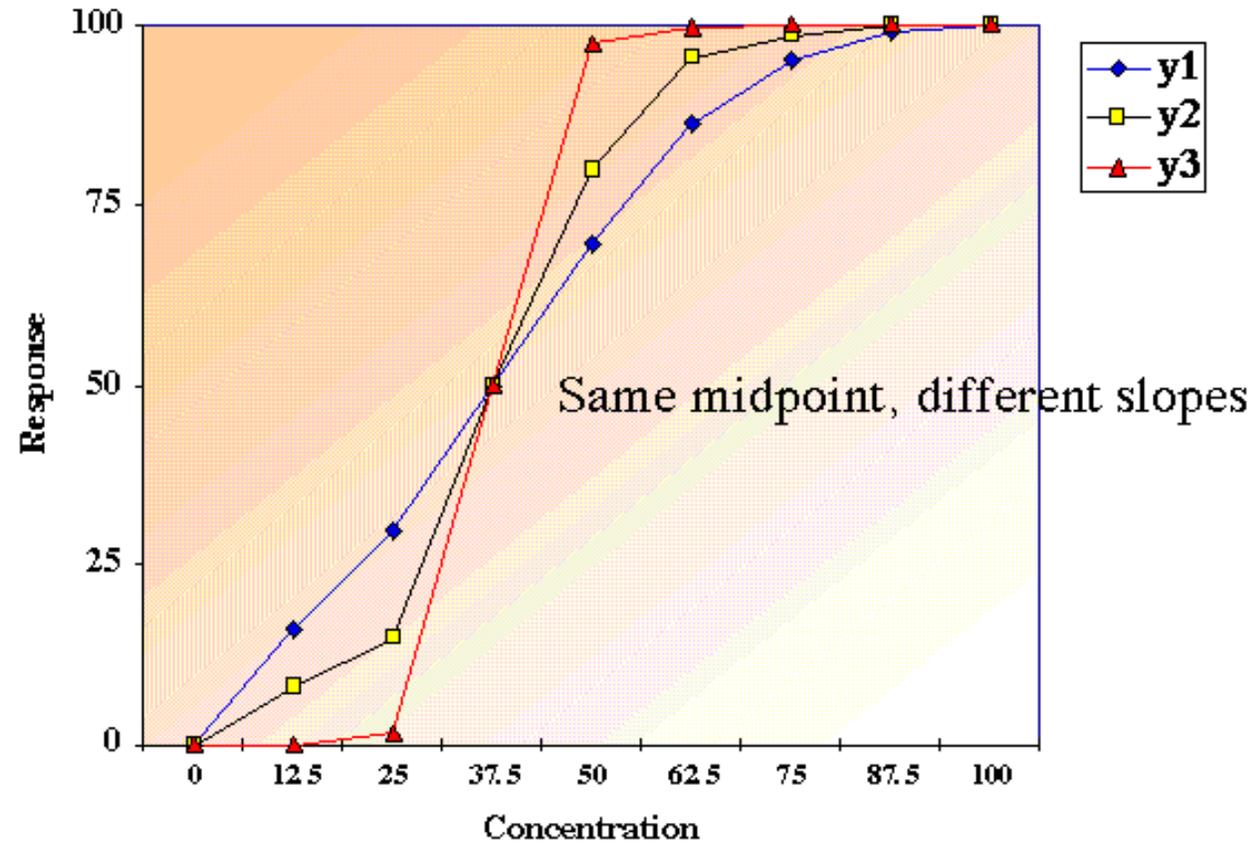


CONFRONTI TRA CURVE DOSE-RISPOSTA



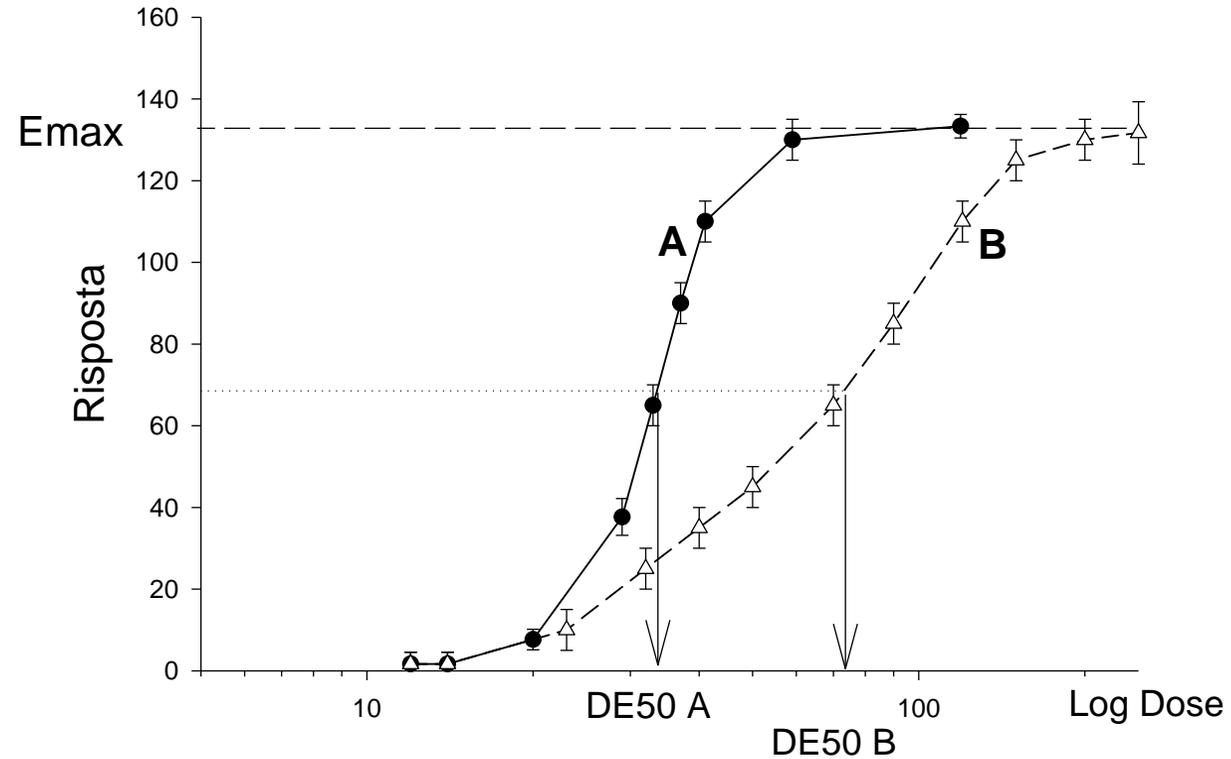
Curve dose-risposta parallele: DE50 e dosi soglia diverse, uguale pendenza

Confronti tra curve dose-risposta



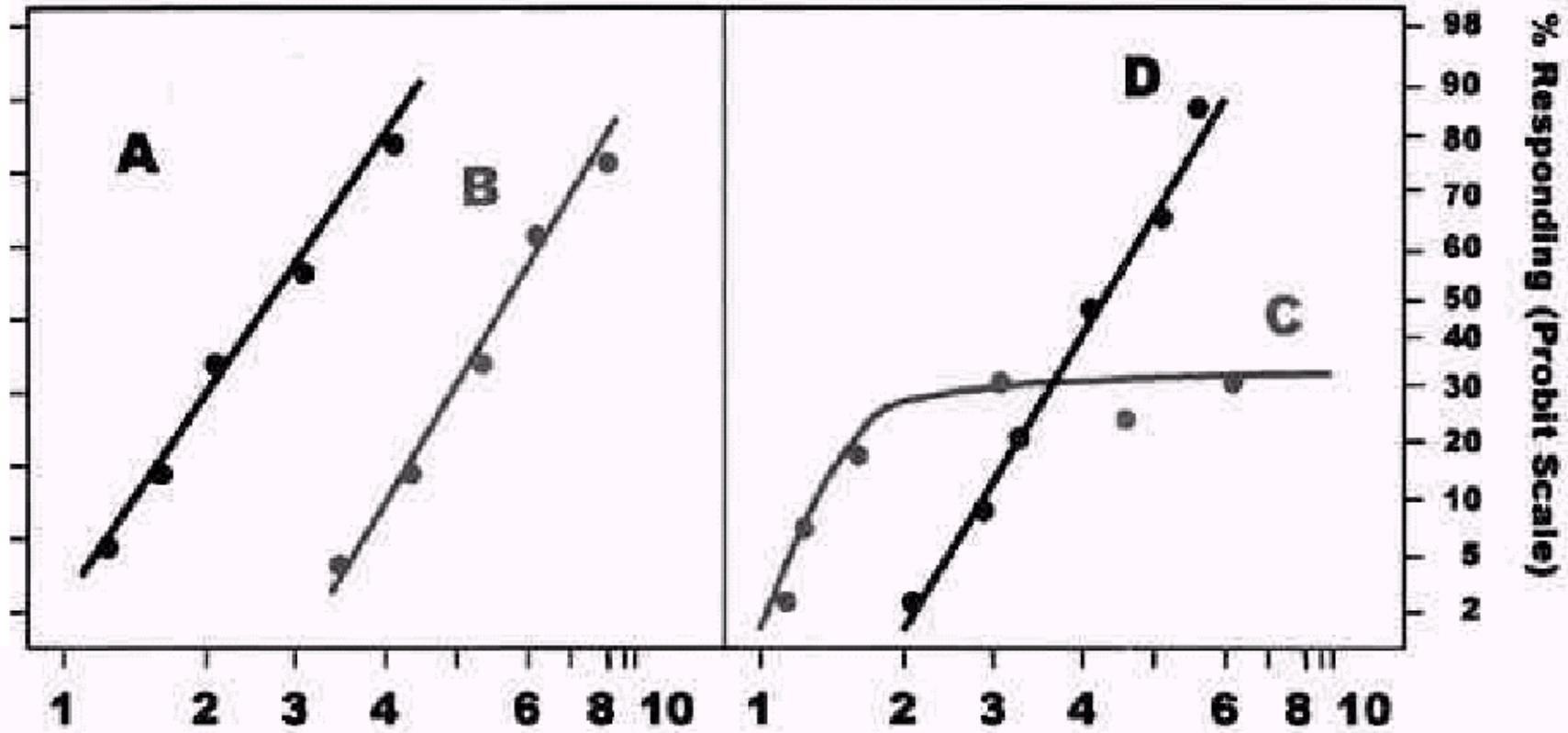
Curve con uguale DE50 ma pendenze e dosi soglia diverse

Confronti tra curve dose-risposta



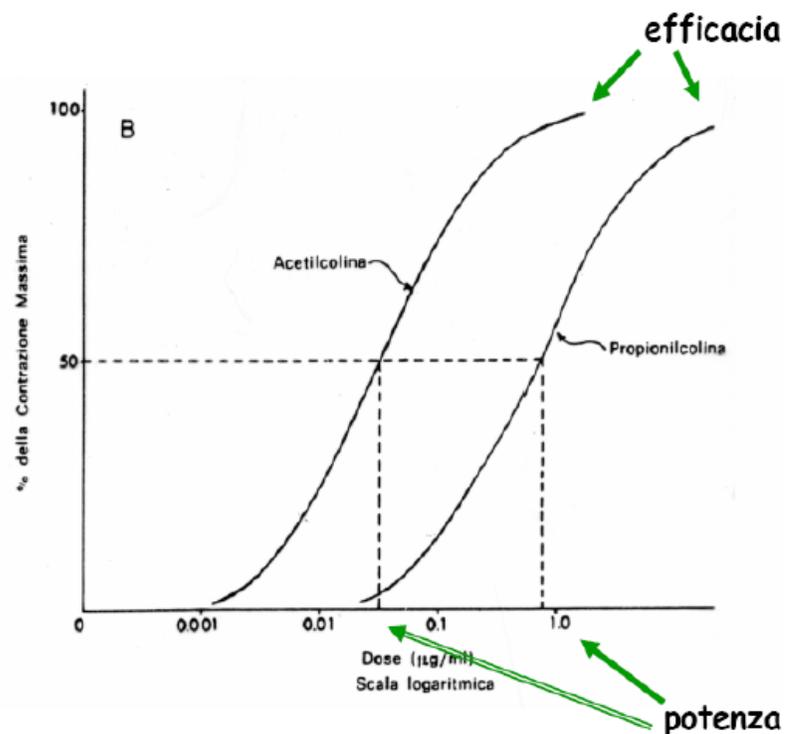
Esempio di curve dose-risposta graduali non parallele:
DE50 diverse, dosi soglia uguali pendenze diverse

Dose-response curves for 4 different chemicals



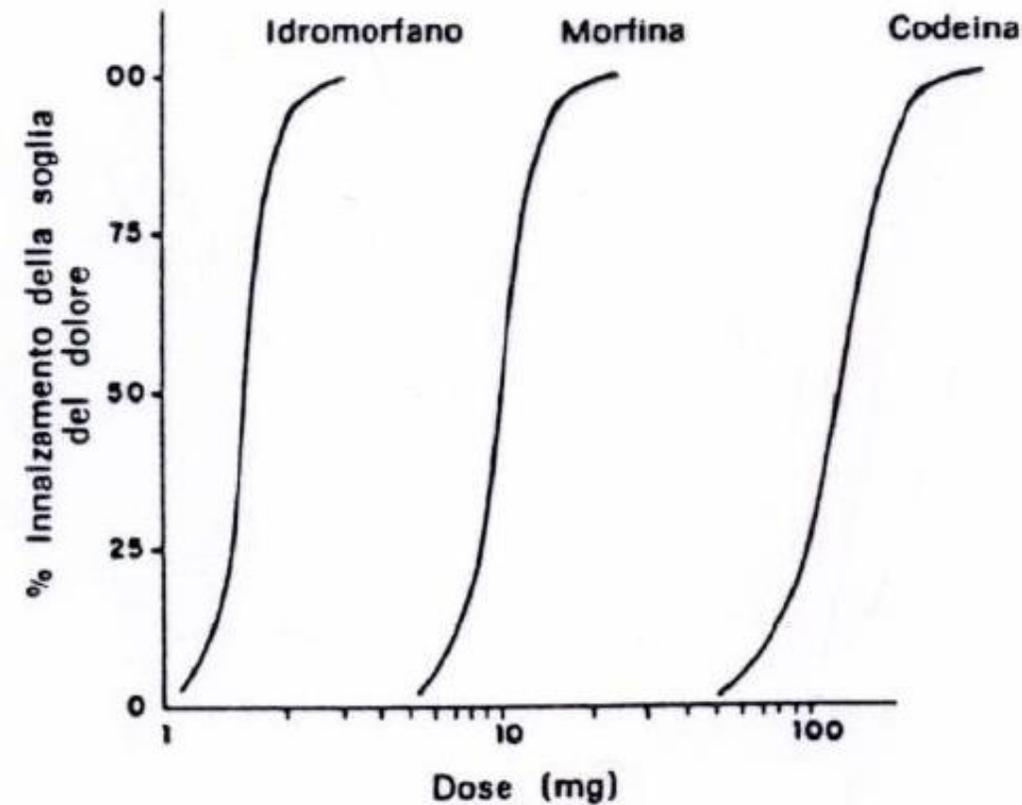
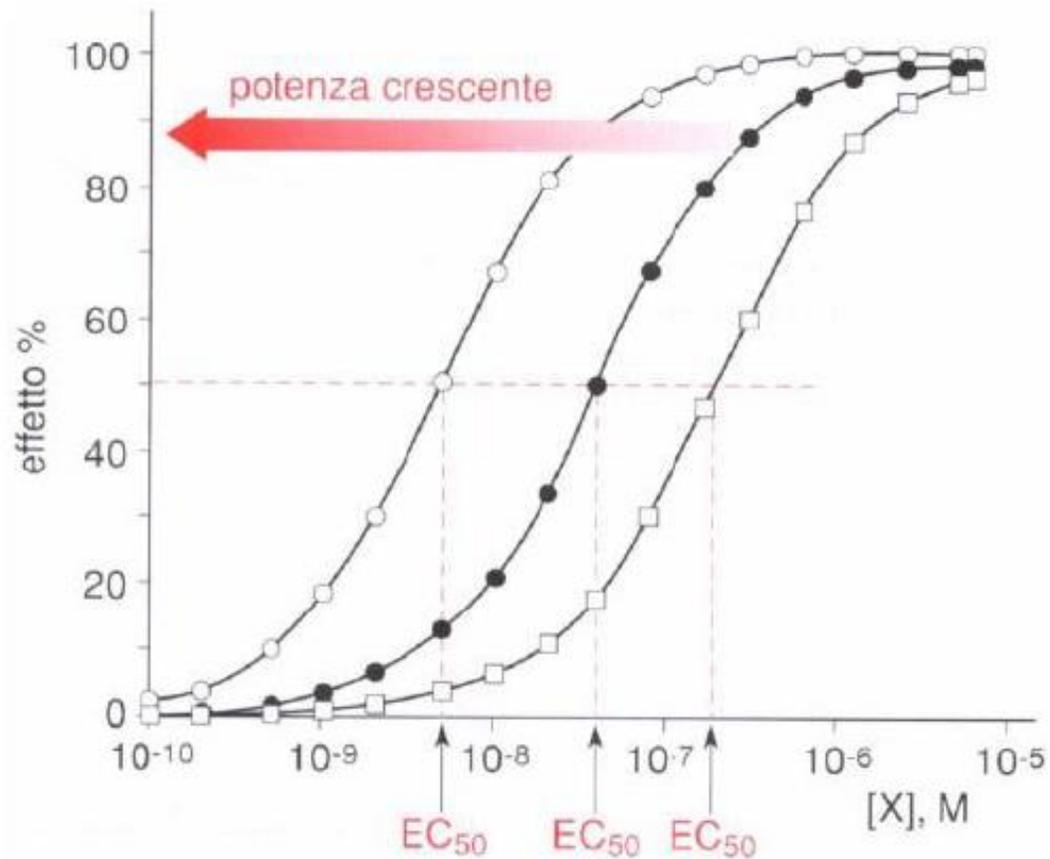
Potenza????
Efficacia????

FARMACI AGONISTI

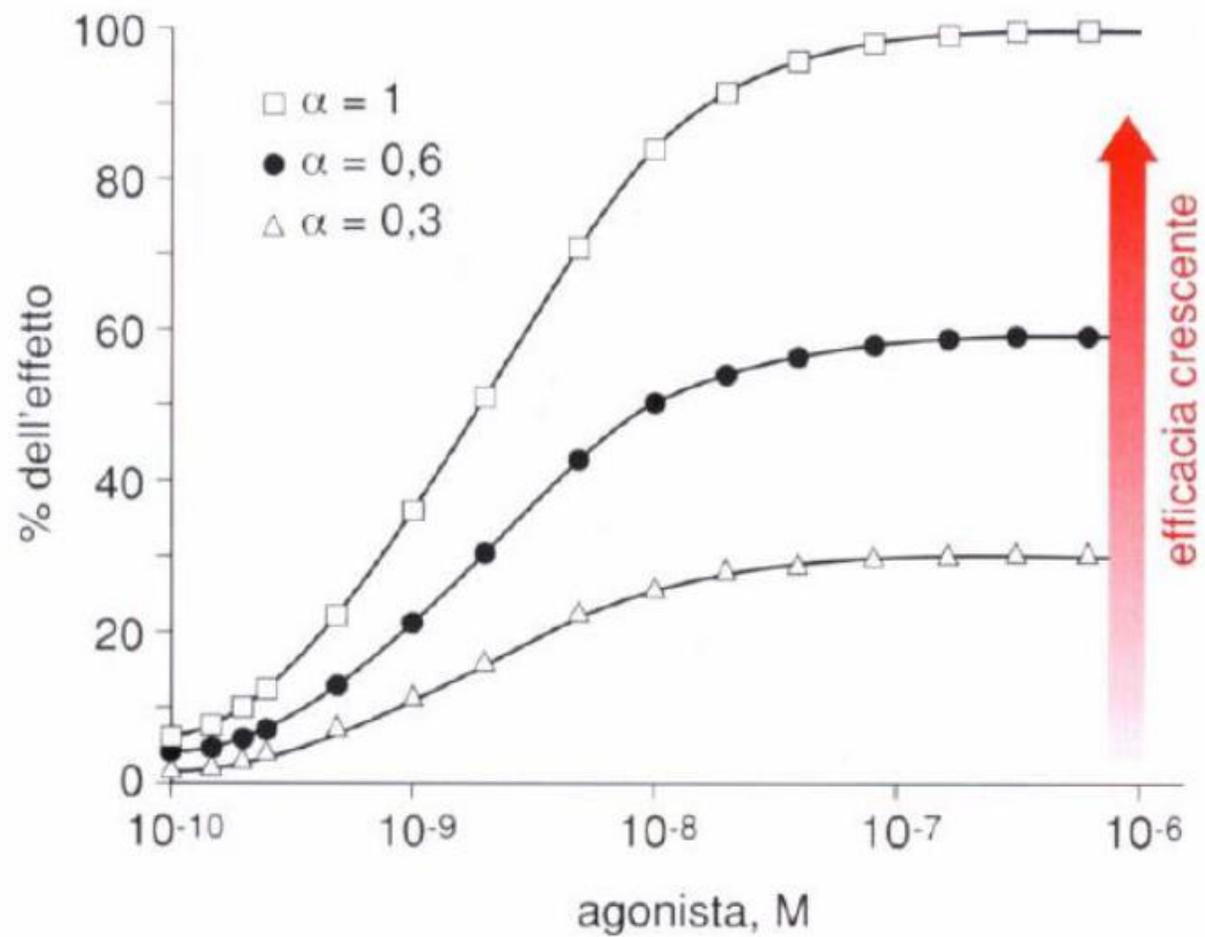


Un farmaco agonista è in grado di legare il recettore (affinità) e determinare un effetto farmacologico (potenza)

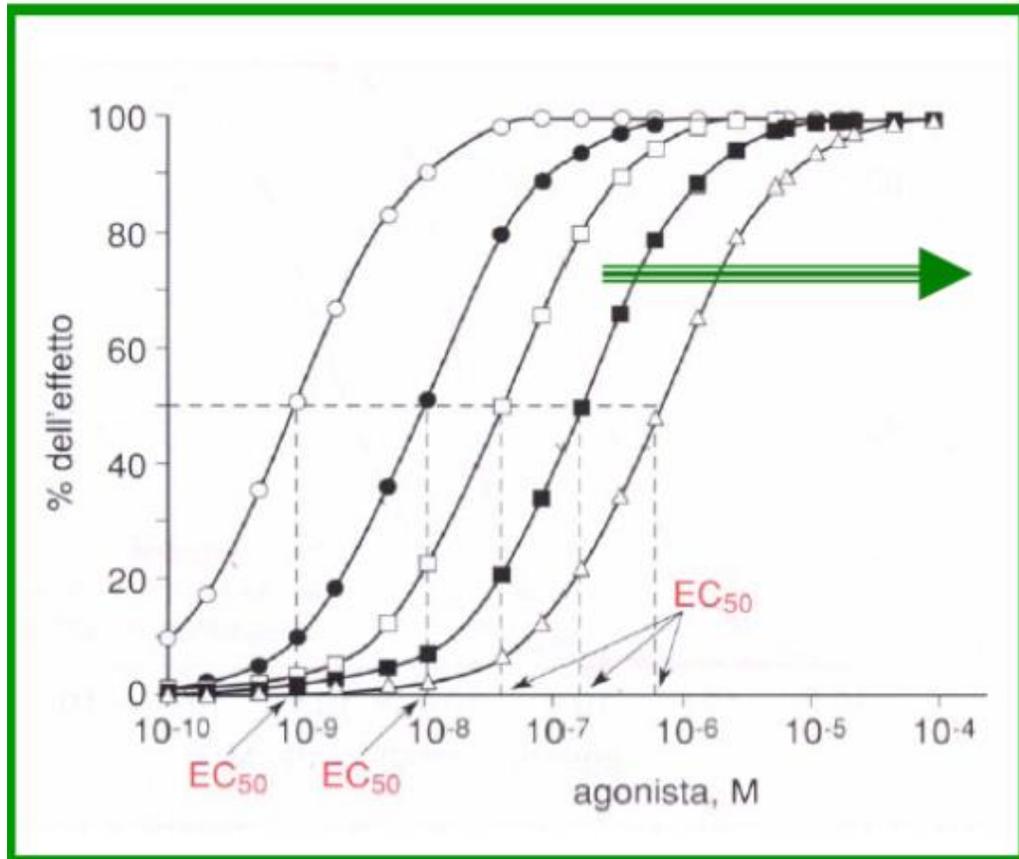
POTENZA DI UN FARMACO



EFFICACIA



ANTAGONISTI COMPETITIVI

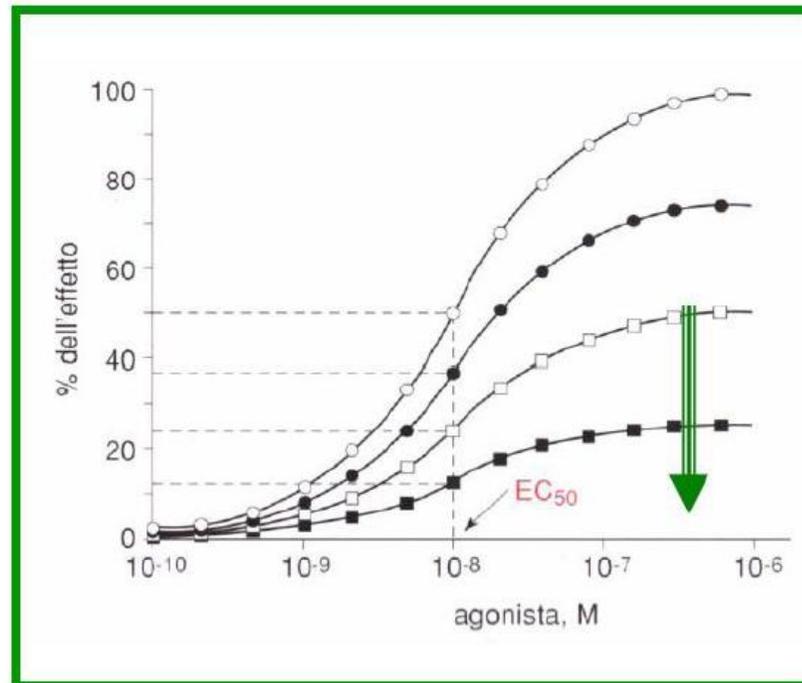


Un antagonista competitivo **sposta** la **curva dose-risposta** dell'agonista verso **destra**

Aumentando la concentrazione di agonista si può generare lo **stesso effetto massimo** ottenuto in assenza dell'antagonista

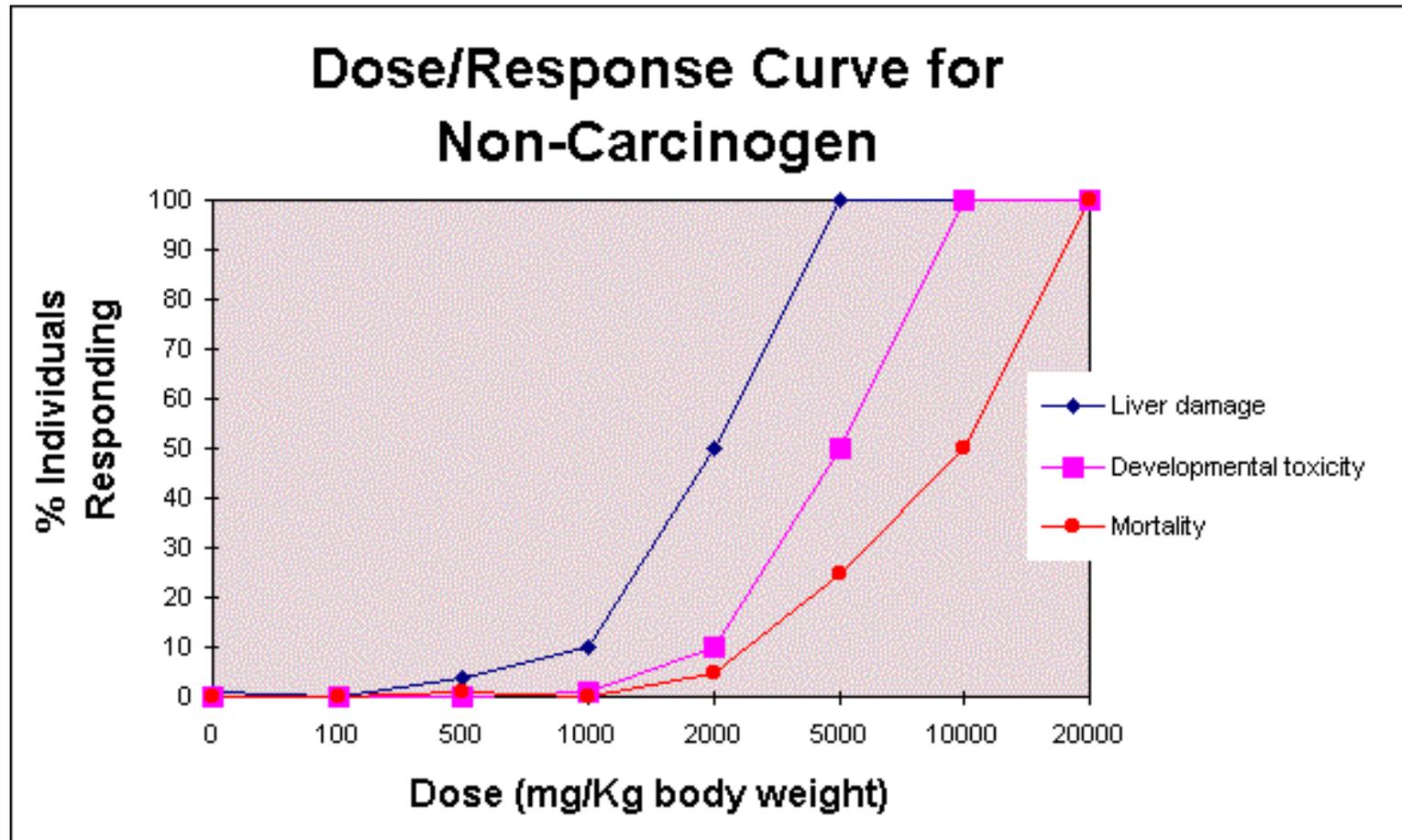
Un antagonista competitivo **riduce** la **potenza** dell'agonista

ANTAGONISMO NON COMPETITIVO

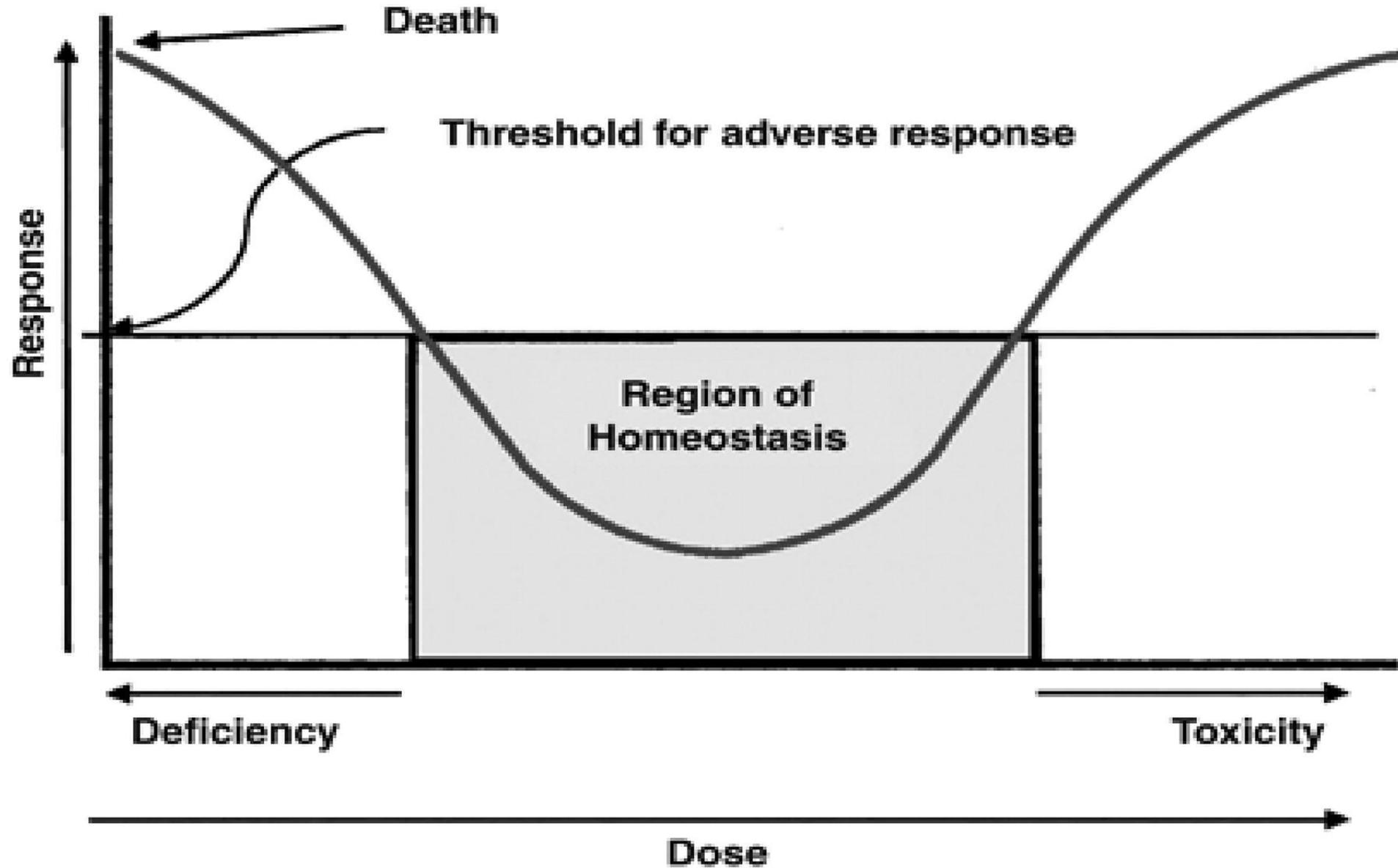


Un antagonista non competitivo **deprime l'effetto massimo** ottenibile anche con dosi elevate dell'agonista senza modificarne la potenza.

N.B.: spesso le curve dose-risposta di una sostanza sono parzialmente sovrapposte \Rightarrow dosi con effetti tossici multipli



Relazione dose – risposta x nutrienti



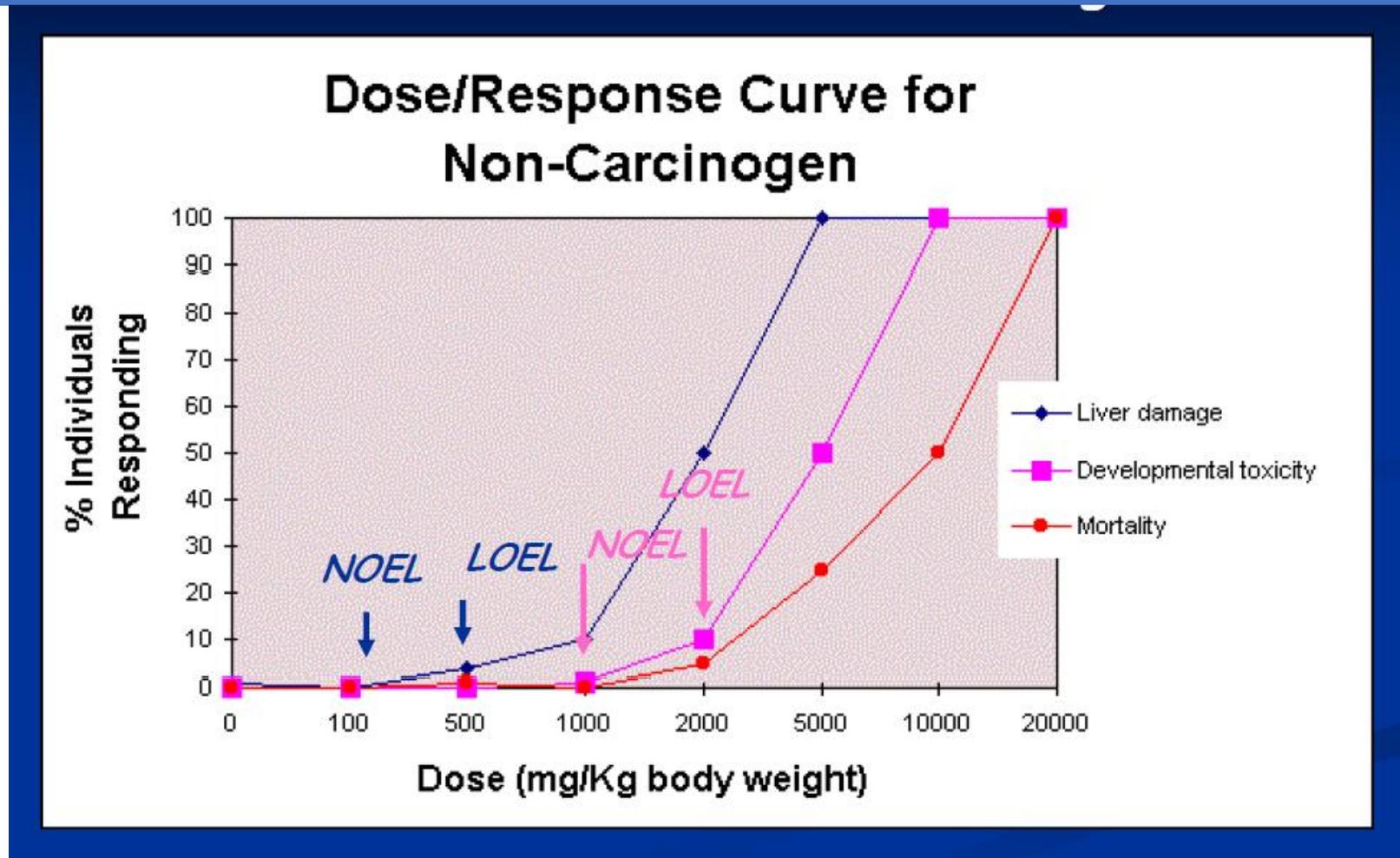
Fattori che possono influenzare le proprietà tossiche di una sostanza

Fattori relativi all'agente tossico	Caratteristiche chimico-fisiche, purezza, veicolo
Fattori relativi all'esposizione	Dose, via di introduzione, durata dell'assunzione, frequenza delle assunzioni, concentrazione nell'organo bersaglio
Fattori relativi al soggetto	Specie, razza, sesso, età, corredo genetico individuale, stato di salute, stato nutrizionale e ormonale
Fattori ambientali	Temperatura, umidità, ecc.
Interazioni chimiche	

OBIETTIVI DEGLI STUDI TOSSICOLOGICI ANIMALI

- ACUTI E SUBACUTI → determinazione della DL50
- SUBCRONICI E CRONICI → NOEL/NOAEL, LOEL/LOAEL
- ↓
- Valutazione del rischio
- Calcolo dell'ADI
- **Composti non cancerogeni e/o cancerogeni non genotossici.**
- Per questi composti esiste una **dose soglia**, al di sotto della quale l'effetto tossico non si manifesta.
- Gli studi animali forniscono i valori di NOEL e LOEL

Variazione degli effetti = variazione delle curve dose/risposta e delle dosi soglia



Design Aspects of Animal Toxicology Studies

	To Support Hazard Identification	To Support Dose-Response Assessment
Test material purity	Analyze and report	
Vehicle (e.g., water, corn oil, filtered air)	Consider including non-vehicle control group	Analyze and report on stability of test compound in vehicle
Animal model	<ul style="list-style-type: none"> Consider conducting studies in both sexes and > 1 species Identify susceptible lifestage(s) by conducting studies in animals of various ages Some specific animal models can be used to identify sensitive populations 	
Exposure Levels	Dose range should include a low-effect level (LOEL) for ≥ 1 health effect	<ul style="list-style-type: none"> Use ≥ 3 chemical doses in addition to controls Logarithmic spacing Dose range should include a no-effect level (NOEL)
Statistics	Sufficient statistical power	Clearly describe statistical methods

Dose-Response Assessment

Characterize Dose-Response Relationship

Identify a NOAEL or LOAEL (for nonlinear) or an LED₁₀ (for linear)
Conduct dose-response modeling and BMD Modeling



Identify critical effect(s) and level(s)



Identify point of departure

NOAEL

No-Observed-Adverse-Effect Level. Highest dose at which no significant adverse effects are observed.

LOAEL

Lowest-Observed-Adverse-Effect Level. Lowest dose at which significant effects are observed.

LED₁₀

Dose that produces an adverse effect in 10% of exposed, relative to control.

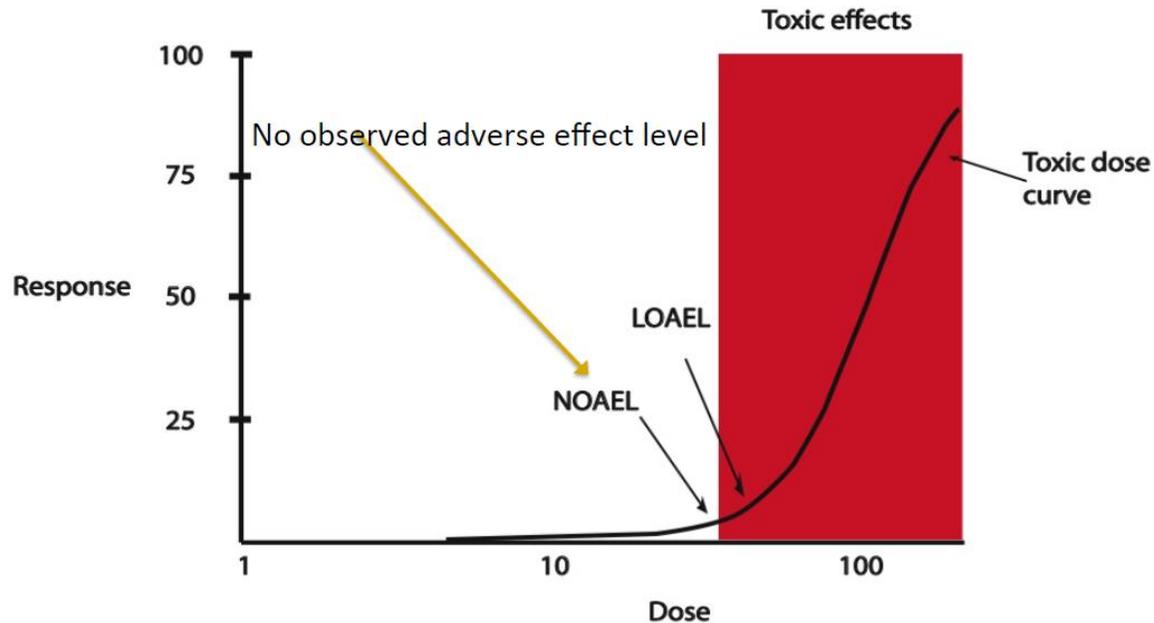
BMD

Benchmark Dose. An exposure to a low dose of a substance that is linked with a low (1-10%) risk of adverse health effects, or the dose associated with a specific biological effect.

BMDL

A lower, one-sided confidence limit on the BMD.

VALUTAZIONE DEL NOEL



La determinazione del NOEL è condizionato dal protocollo sperimentale cioè dal numero di animali, il tipo di risposta osservata (sensibilità), dal metodo di analisi e specialmente dalla selezione ed ampiezza delle dosi. Infatti si potrebbero avere dei NOEL diversi da due studi "identici" per uno stesso end-point che differiscono solo per le dosi scelte

Il **NOEL** (*No Observed Effect Level*) è la dose senza effetto (in mg/kg di peso corporeo) rivelata da studi a lungo termine su più specie animali. In genere si utilizza il NOEL relativo alla specie animale che si è rivelata essere più sensibile, dove cioè l'effetto tossico si manifesta alla dose più bassa.

Limitazioni:

La determinazione del NOAEL è condizionato dal protocollo sperimentale cioè dal numero di animali, il tipo di risposta osservata (sensibilità), dal metodo di analisi e specialmente dalla selezione ed ampiezza delle dosi.

Infatti si potrebbero avere dei NOAEL diversi da due studi "identici" per uno stesso end-point che differiscono solo per le dosi scelte.

La valutazione della qualità dei dati e l'accettabilità degli studi è lasciata all' «expert judgement» poiché usare dati limitati può portare ad usare un valore di NOAEL alto nella VdR.

NOEL e LOEL

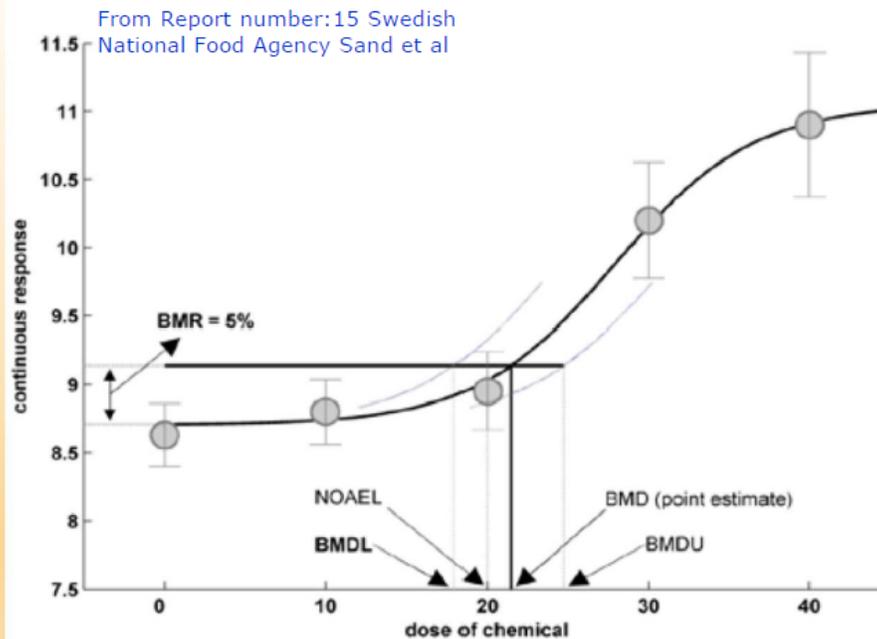
- Entrambi questi valori sono però ampiamente criticati, perché legati al piano sperimentale: le concentrazioni LOEL e NOEL sono semplicemente identificate con le concentrazioni sperimentalmente utilizzate e non con punti reali della relazione causa – effetto. Ad esempio, se la sperimentazione prevedeva concentrazioni (unità arbitrarie) pari a 1000, 500, 250, 125, 62,5 e 0 (controllo) e se l'analisi statistica indica che la concentrazione 62,5 non è distinguibile dal controllo, ma la concentrazione 125 dà un effetto statisticamente significativo, si avrebbe LOEL = 125 e NOEL = 62,5. Non si ha però nessuna indicazione nel campo compreso tra 62,5 e 125. Una successiva sperimentazione, con concentrazioni 100 – 75 – 50, 25, 0, potrebbe, infatti, produrre una NOEL di 25 ed una LOEL di 75, e così via cambiando il piano sperimentale.
- Per lo stesso motivo, anche il valore soglia è impossibile da determinare sperimentalmente.

Benchmark Dose (BMD)



Recentemente l'EFSA in una sua Opinion (EFSA Journal 2017;15(1):4658) è riportato: ..

"BMD approach is a scientifically more advanced method compared to the NOAEL approach for deriving a Reference Point (RP).."



LA BMD viene calcolata usando un modello matematico che "fitta" l'intero data set della curva estrapolando la dose associata ad un effetto in una determinata percentuale di animali (1, 5 o 10%) o ad un effetto (pari al 1, 5 o 10% dell'effetto massimo) prendendo generalmente il limite inferiore dell'intervallo di confidenza (95%) (BMDL) per tener conto delle incertezze statistiche

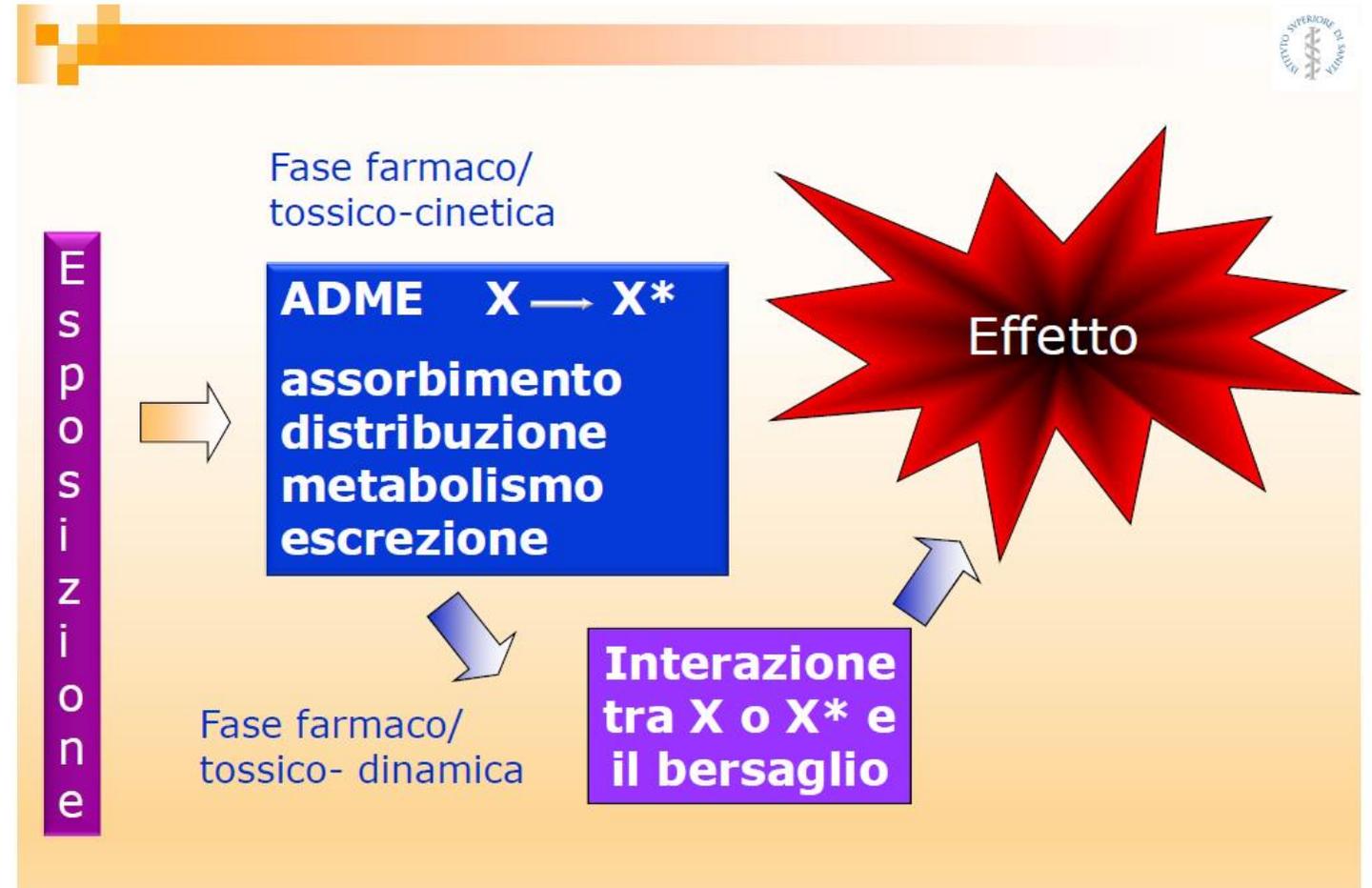
NOAEL =20, LOAEL =30

Advantages of BMD Modeling over NOAEL/LOAEL Approach

Subject	NOAEL/LOAEL Approach	BMD Approach
Dose selection for point of departure	Doses in study only	More independent of study dose levels. BMD can correspond to the dose at any predetermined response level (BMR)
Relationships between doses in dataset	Considers statistical significance of response for each dose independently	Considers the full shape of a dose-response dataset
Cross-study comparisons	More difficult to compare across studies, tied to study design	Dose estimates correspond to specific response levels, enabling easier comparisons across chemicals or endpoints
Dose variability's impact on the point of departure	Does not consider variability in significance tests, but more uncertainty can result in higher NOAEL	BMD accounts for sample size, background response rate, and response variability when using the BMDL value. More uncertainty, lower BMDL

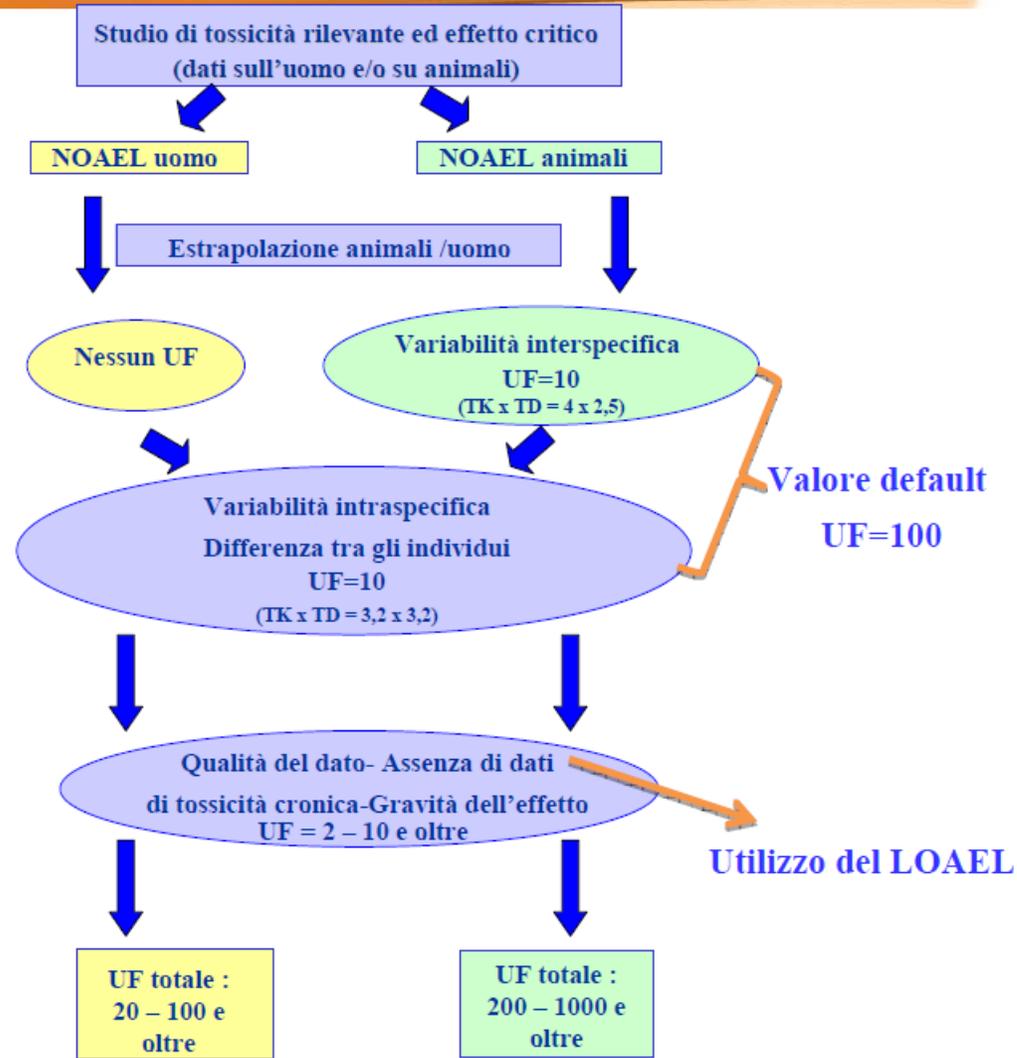
Valutazione dell'esposizione

- Determinare il livello di esposizione della popolazione attraverso la determinazione della:
 - Dose esterna (concentrazione ambientale, dieta etc)
 - Dose interna



Fattori di incertezza (UF; AF; SF)

Introduzione dei fattori di incertezza per tenere conto della variabilità e dell'incertezza nella determinazione dei valori di riferimento.



Caratterizzazione del rischio

Valutazione dell'accettabilità

La Dose senza Effetto osservata (NOEL) corrisponde alla dose massima che non provoca nella specie animale più sensibile alcun effetto in termini di danno biologico. Essa richiede per la valutazione una sperimentazione a medio (90 gg) o a lungo termine (tutta la vita dell'animale) e si esprime in mg / Kg di peso corporeo.

Dal NOEL si passa alla DGA utilizzando un fattore di sicurezza:

$$DGA = \frac{NOEL}{\text{fattore di sicurezza}}$$

Se le prove sono state condotte a lungo termine il fattore è **100** e la DGA viene detta definitiva: x 10 data le differenze tra metabolismo umano ed animale e x 10 data la variabilità di risposta interumana. Se le prove sono state fatte a medio termine, si usa il fattore **1000** e la DGA è definita temporanea. Il fattore 1000 si applica se la sostanza ha solo effetti tossici; se presenta anche potere teratogeno o genotossico si moltiplica ancora per 10.

In presenza di potere cancerogeno documentato, la DGA non viene stabilita e si indica come massimo valore ammesso quello corrispondente alla soglia analitica di sensibilità delle metodiche più moderne in uso.

┃ Fattore 10

- dati sufficienti da esposizione umana subcronica o cronica per il calcolo del NOEL
- dati concordanti di tossicità in altre specie

┃ Fattore 100

- dati sufficienti di tossicità cronica in una o più specie di animali per il calcolo del NOEL
- buone informazioni per esposizioni croniche o subcroniche nell'uomo sufficienti per identificare un LOEL

┃ Fattore 1000

- dati limitati o incompleti di tossicità subcronica e cronica nell'animale

ADI= dose giornaliera accettabile

Una posizione ottimistica potrebbe utilizzare l'eguaglianza ADI=NOEL, ma non si terrebbe conto del fatto che l'uomo è potenzialmente diverso anche dagli animali più affini.

Valori di riferimento

NO(A)EL
UF

Valori di riferimento per rischio cronico:

ADI (Acceptable Daily Intake)

La dose di fitofarmaco alla quale la popolazione generale (inclusi gruppi a rischio e sensibili) potrebbe essere esposta senza alcun rischio apprezzabile di effetti dannosi durante tutto l'arco della vita

Valori di riferimento per rischio acuto:

ARfD (Acute Reference Dose)

Stima della dose di fitofarmaco che può essere ingerita durante un breve periodo di tempo senza rischio apprezzabile per la salute umana

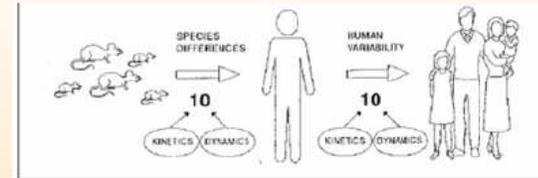
UN ESEMPIO

Il NOEL più basso per un pesticida è = $0.14 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ da studi cronici a due anni sul ratto (effetti al LOAEL = Tossicità epatica)

AF usato: 100 (10 x 10 per differenze intra- e inter-specie).

Nessun altro AF è necessario (studi di buona qualità)

$$\text{ADI} = \frac{\text{NOEL}}{100} = 0.0014 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$$



Un AF addizionale potrebbe essere applicato se:

- L'effetto osservato al LOAEL ne dà motivo (p.e. tossicità riproduttiva)
- un NOAEL non è derivato e si usa il LOAEL per il calcolo
- Non buona qualità dei dati/assenza di dati sulla tossicità cronica

AF addizionale = 2-30 → AF totale in questo caso va da 200-3000 (a seconda del parere dell'esperto)

Relazione tra ADI e LMR

- L'ADI serve per poter definire gli LMR che sono essenziali per la gestione del rischio. Il rispetto dei LMR garantisce, infatti, che l'assunzione complessiva di residui attraverso la dieta non superi l'ADI anche tenendo conto di possibili "picchi" di esposizione per eccesso del consumo. Un aspetto importante è che l'ADI assicura un'adeguata protezione non solo rispetto ad un ipotetico individuo medio, ma a eventuali sottogruppi di popolazione che possono essere particolarmente suscettibili a quella specifica molecola (ad es., nell'infanzia la popolazione è riconosciuta particolarmente suscettibile a diverse molecole con effetti sul sistema immunitario, endocrino, nervoso ecc.).



Calcolo LMR

Studi in pieno campo o in serra

Studi sull'animale d'allevamento

selezionando le GAP (dose/ha maggiore, N° max di applicazioni, min.PHI...)

Misurazione della quantità presente nella derrata

Misura della quantità presente negli alimenti (uovo, carne, latte....)

Media e dispersione dei risultati => LMR
Per ciascuna coltura (o alimento animale) considerato

Calcolo LMR

Vengono effettuati degli studi sperimentali controllati (trial) condotti secondo le condizioni d'uso previste.

Metodo I:



Si basa sull'assunzione che i valori dei residui ottenuti da prove sperimentali si distribuiscono secondo una distribuzione normale. Determinazione della media, della DS e dei valori dei residui massimi ad un tempo "t". Questo permette di calcolare l'LMR ad un certo intervallo di raccolta o viceversa un intervallo di raccolta per un valore di LMR fissato. Si escludono outliers.

Metodo II:



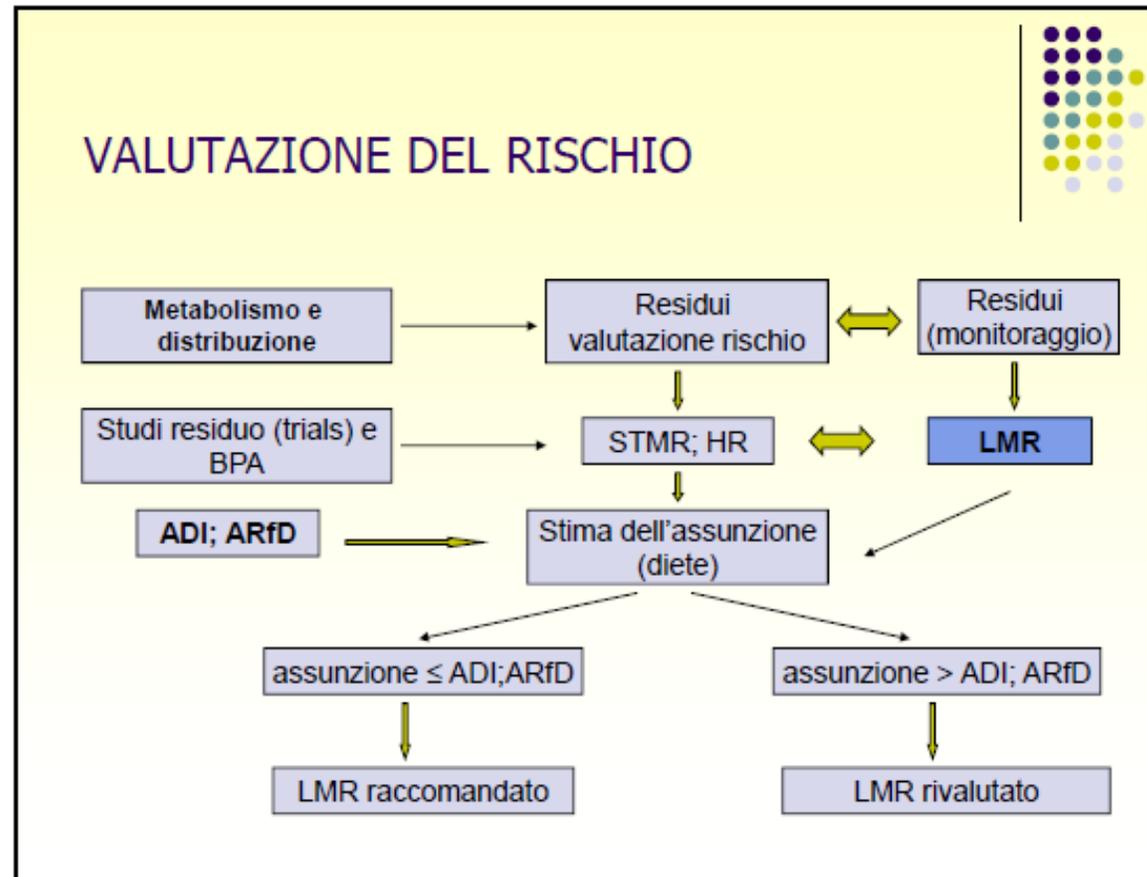
I risultati provenienti dagli studi sui residui non seguono una distribuzione normale. Servono almeno dati provenienti da 8 studi. Non vengono esclusi gli outliers.

Calcolo LMR

Nella pratica il calcolo dei LMR, con entrambi i metodi, viene eseguito con l'ausilio di un software. Il processo decisionale viene effettuato successivamente sulla base dei valori ottenuti, in genere la tendenza è quella di approssimare per eccesso i dati ottenuti.

REGOLA GENERALE

Se le stime dell'esposizione a breve e a lungo termine sono minori dell'ADI/ARfD allora i rischi per l'uomo sono considerati accettabili.



ESEMPIO 1

Mele (pomacee) coltura maggiore

Vengono fornite 8 prove residuo condotte al Nord Europa (N EU) e 8 prove residuo al Sud Europa (S EU) in accordo con le rispettive BPA.

N EU

- *BPA* - Dose di applicazione = 2,4 kg a.i/ha; numero dei trattamenti = 9;
- Intervallo di pre-raccolta (PHI) = 28 giorni.
- *Prove residuo*
0,11 mg/kg; 0,25 mg/kg; 0,34 mg/kg; 0,59 mg/kg; 0,61 mg/kg; 1,54 mg/kg; 2,44 mg/kg; 2,92 mg/kg.

Inserendo i dati nel foglio di calcolo si ottiene per il N EU:

$$\text{LMR1}(\text{R}_{\max}) = 4,53; \text{LMR2}(\text{R}_{\text{ber}}) = 4,43.$$

LMR proposto per il N EU = 5 mg/kg.

Maggiori dettagli di calcolo sono illustrati in Schema A1. Il foglio di calcolo fornisce anche i valori di STMR = 0,6 mg/kg e di HR = 2,92 mg/kg. Entrambi questi parametri verranno usati rispettivamente per il calcolo dell'esposizione cronica ed acuta.

Schema A1. Calcolo LMR per mele al N EU (con STMR = 0,6 mg/kg e HR = 2,92 mg/kg)

Metodo I (R_{\max}):

n. = 8
K = 3,188
Media = 1,100
SD = 1,075
→ LMR 1 = 4,526

Metodo II (R_{ber}):

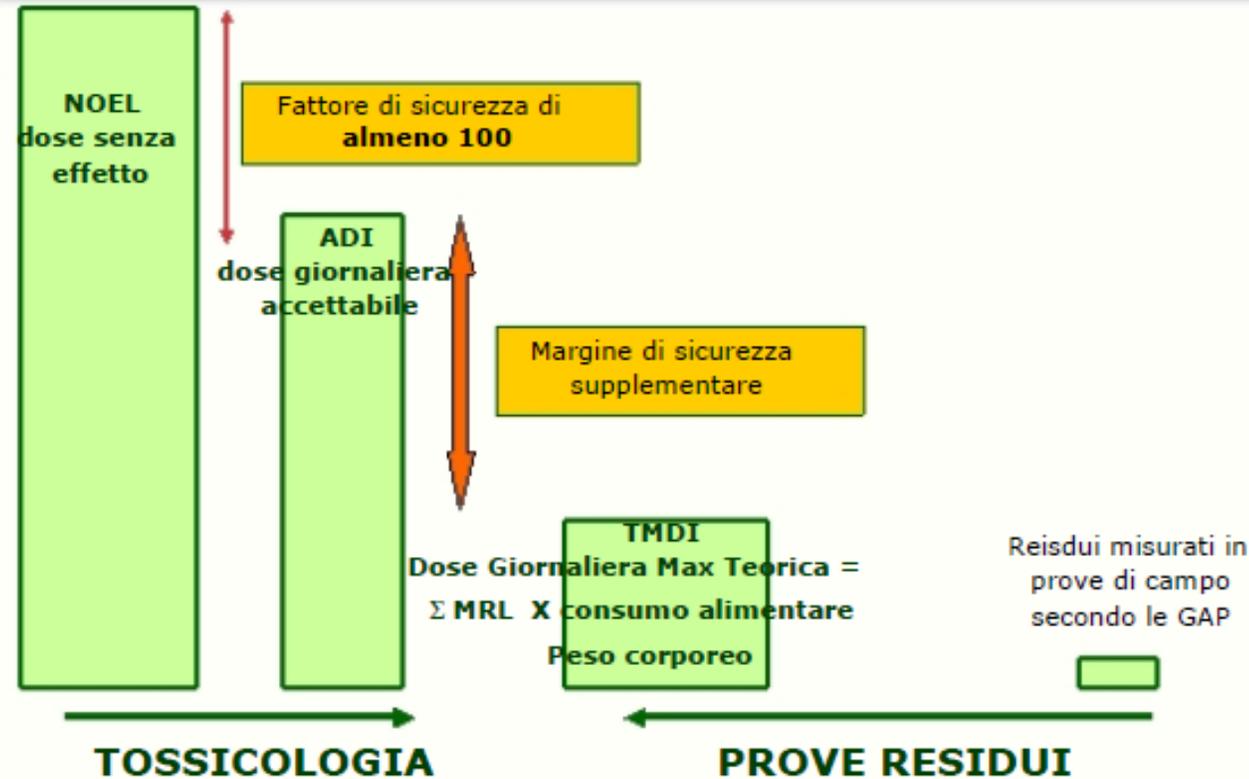
n. = 8
P = 0,75
J = 6
G = 0,75
R(J) = 1,54
R(J+1) = 2,44
R(0,75) = 2,215
→ LMR 2 = 4,430

S EU

- *BPA* - Dose di applicazione = 1,6-2,4 kg a.i/ha; numero dei trattamenti = 11;
- Intervallo di pre-raccolta (PHI) = 28 giorni.
- *Prove residuo*
0,4 mg/kg; 0,79 mg/kg; 0,85 mg/kg; 0,91 mg/kg; 0,92 mg/kg; 1,29 mg/kg; 1,43 mg/kg; 2,5 mg/kg.

LMR proposto per il S EU = 3 mg/kg.

L'elaborazione dei dati ha quindi fornito per il N EU un valore di LMR di 5 mg/kg e per il S EU un valore di 3 mg/kg. Dovendo fissare un unico valore di LMR idoneo a coprire entrambe le pratiche agricole al N e S EU si prende il valore più alto ed esattamente per le mele si fissa un valore di residuo pari a 5 mg/kg.

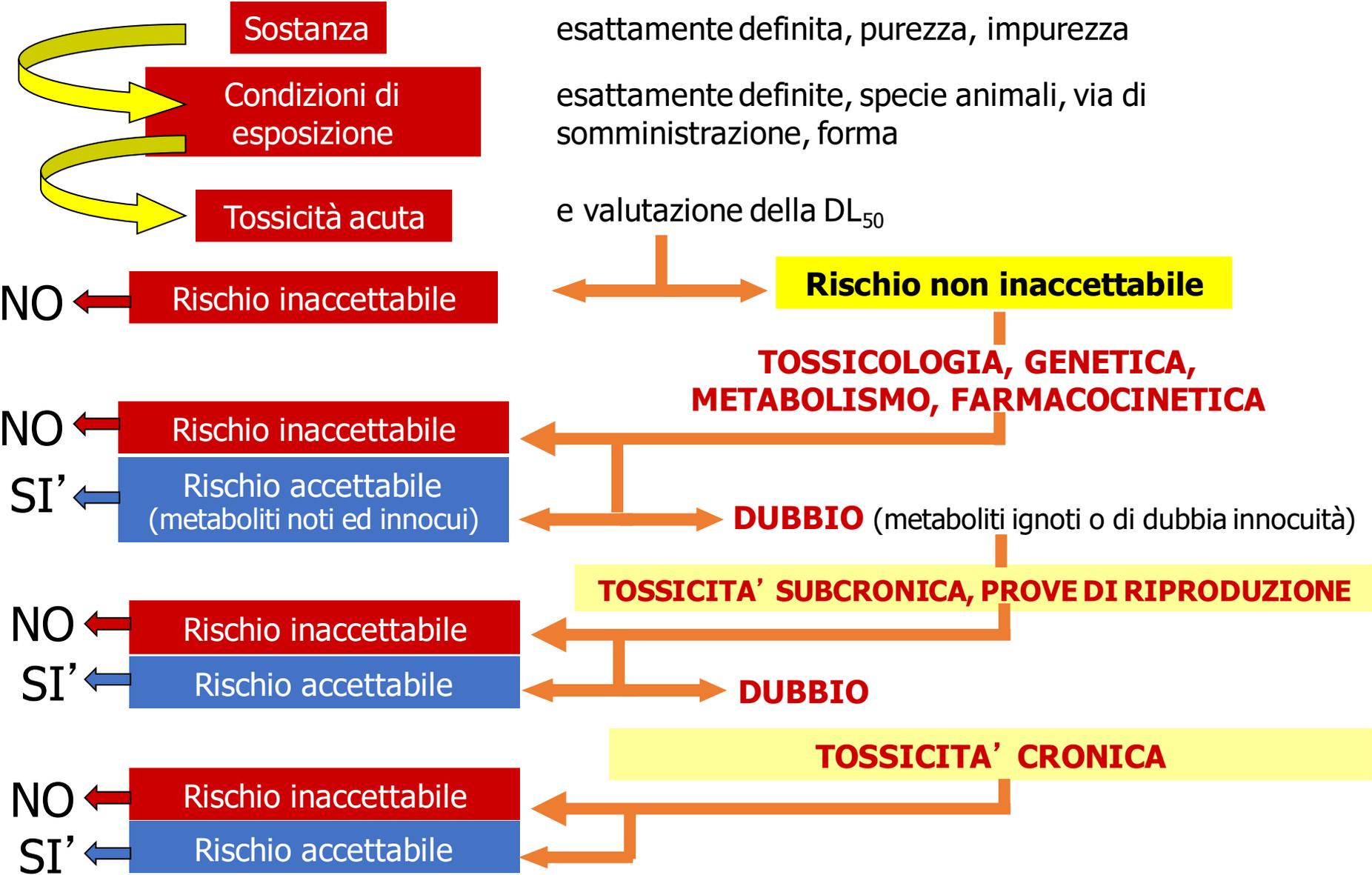


I livelli di residuo suscettibili di essere ingeriti quotidianamente da un individuo sono misurati per la loro presenza nell'insieme dei prodotti consumati (prodotti freschi, trasformati, alimenti animali, acqua).

La somma dei residui consumati non deve superare l'ADI.

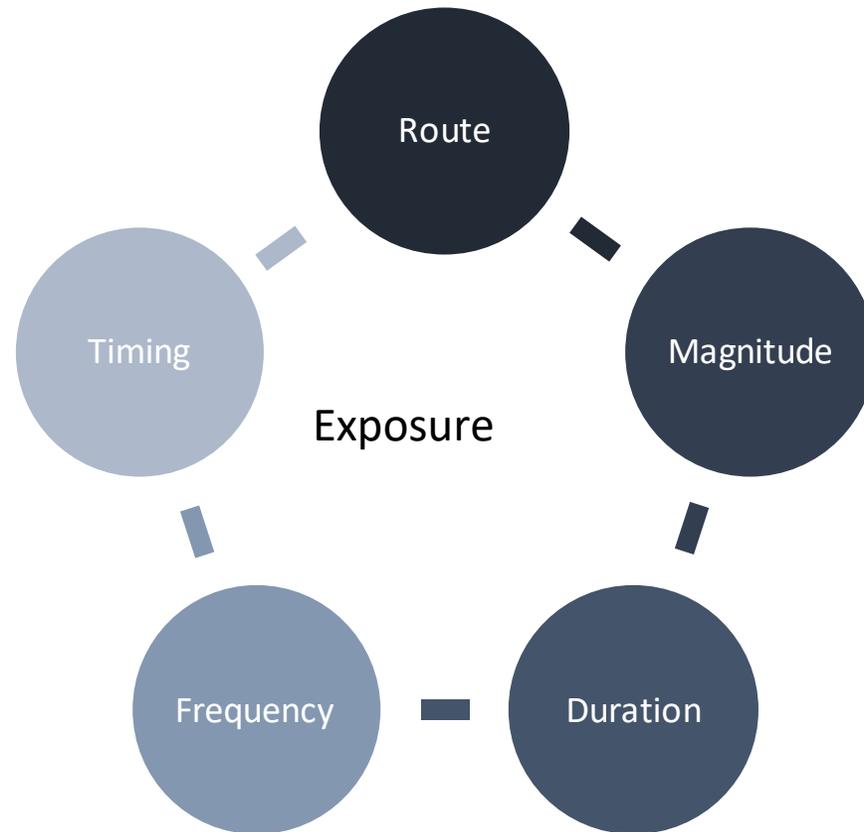
I livelli di residuo osservati sono espressi in mg di sostanza attiva per Kg di pianta/latte/carne ecc.

Studio dell'accettabilità di una molecola



Importance of the Exposure Scenario

Exposures in animal toxicology studies are characterized by:



Route of Exposure

- Route affects toxicity
- Should represent potential human exposure
- Common routes:
 - Oral – feed, drinking water, gavage, or capsule
 - Inhalation – via chamber exposure (whole body, head-only, or nose-only)
 - Dermal – applied to the skin of the animal

Route of Exposure Considerations Supporting Dose-Response Assessment

ORAL:

- Monitor food or water consumption
- Gavage/capsule vs. dietary/drinking water?

DERMAL:

- Occlusive vs. semi-occlusive vs. non-occlusive?
- Monitor secondary oral exposure

INHALATION:

- Monitor secondary oral exposure
- Monitor reflex bradypnea
- Report target, nominal and actual concentrations, including information on variability over time

ALL ROUTES:

- Consider measuring chemical concentrations in tissues

Endpoints Examined

- Broad array of endpoints examined in general toxicity studies, including:
 - Organ weights
 - Organ and tissue histopathology
 - Hematology
 - Clinical chemistry
 - Urinalysis
- More specific endpoints used in targeted toxicity studies

General study:

↓ thymus weight



Targeted study:

Disease resistance
Antibody response
NK cell activity

Identify Types of Effects

What is an adverse effect?

A biochemical change, functional impairment, or pathologic lesion that affects the performance of the whole organism, or reduces an organism's ability to respond to an additional environmental challenge

Adverse? Maybe.

- Cytochrome P-450 induction
- Biochemical changes
- Altered immune cell phenotypes or cytokine profiles

Types of Effects

- Adaptive
- Compensatory
- Adverse
- Frank