

Septiembre de 2011

GUIA TECNICA PARA LA CONDUCCIÓN DE ESTUDIOS DE
METABOLISMO Y CINÉTICA DE RESIDUOS DE FÁRMACOS
VETERINARIOS EN ANIMALES PRODUCTORES DE
ALIMENTOS

ESTUDIOS DE ELIMINACIÓN DE RESIDUOS PARA
ESTABLECER PERÍODOS DE ESPERA DEL PRODUCTO



Guía n° 1

AUTORES

Participaron en la confección de la guía los representantes de las siguientes instituciones:

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA):

- **Dra. Laura C. Sbordi** (Supervisora Técnica de la Dirección de Productos Veterinarios y Alimentos para Animales. Dirección Nacional de Agroquímicos, Productos Veterinarios y Alimentos – SENASA).
- **Dr. Martín Minassian** (Supervisor Técnico de la Dirección de Productos Veterinarios y Alimentos para Animales. Dirección Nacional de Agroquímicos, Productos Veterinarios y Alimentos – SENASA).
- **Dr. Esteban Dekleva** (Supervisor Técnico de la Dirección de Productos Veterinarios y Alimentos para Animales. Dirección Nacional de Agroquímicos, Productos Veterinarios y Alimentos – SENASA).
- **Dr. Carlos E. Alli** (Responsable de Calidad de la Coordinación de Residuos Químicos de la Dirección de Laboratorio Animal - Dirección General de Laboratorio y Control Técnico – SENASA).

Universidad Nacional de La Plata (UNLP):

- **Dr. Jorge Errecalde** (Profesor Titular de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias y Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata. Académico, Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria).

Universidad Nacional del Litoral (UNL):

- **Dr. Enrique A. Formentini** (Profesor Adjunto de la Cátedra de Farmacología y Director del Laboratorio de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral).

Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA):

- **Dr. Sergio F. Sánchez Bruni** (Profesor Asociado Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Bs. As. – Tandil. Investigador independiente del CONICET).

Cámara Argentina de la Industria de Productos Veterinarios (CAPROVE):

- **Dr. Carlos Francia**
- **Dr. Juan Walter Ostermann**
- **Dr. Esteban Turic**

Cámara de Laboratorios Argentinos Medicinales Veterinarios (CLAMEVET):

- **Dr. Juan Martín Etchegoyen**
- **Dr. Juan Carlos Repetto**
- **Dr. José Chaul**

Coordinación del grupo a cargo del Dr. Javier Pardo (Fundación PROSAIA)

Tabla de contenidos

Prólogo	4
1. Introducción.....	6
1.1 Objetivo de la guía.....	6
1.2 Antecedentes.....	6
2. Guía	6
2.1 Propósito y alcance.....	6
2.2 Estudios de eliminación del residuo marcador	7
2.2.1 Producto en evaluación.....	7
2.2.2 Animales y cría de animales.....	7
2.2.3 Número de animales para el estudio.....	7
2.2.4 Vía de administración.....	8
2.2.5 Sacrificio animal.....	9
2.2.6 Muestreo	10
2.2.7 Recomendaciones para productos propuestos para tiempos de espera de 0 días	14
2.3 Método analítico para ensayos de residuos marcadores.....	15

Prólogo

PROSAIA: La Seguridad Alimentaria y la producción de productos farmacéuticos veterinarios.

“Animales sanos, alimentos sanos, gente sana”.

La Argentina como productora de alimentos de calidad afronta entre otros desafíos el acecho de enfermedades infecciosas emergentes y re-emergentes que, debido a los cambios culturales ocurridos en el mundo en los últimos años, se hallan en continua expansión (BSE, Influenza Aviar, Nipah, West Nile Fever, Rift Valley Fever entre otras). Muchas de estas son zoonosis, lo que ha ocasionado cambios muy profundos en los sistemas de garantías exigidos por las autoridades sanitarias, entre las cuales la seguridad sanitaria de los alimentos es un requisito indispensable. Para alcanzar la seguridad alimentaria de los alimentos es necesario, entre otras condiciones, disponer de productos farmacéuticos veterinarios y biológicos de seguridad y pureza probadas que garanticen, junto con su correcta aplicación, que los productos y subproductos obtenidos de los animales se conviertan en alimentos que no sean causantes de enfermedades por la presencia de contaminantes o agentes patógenos, en forma involuntaria -inocuidad- o deliberada -bioterrorismo- y contribuir así a preservar la salud y protección de los consumidores.

Para eso existen principios fundamentales que se deben tener en cuenta en la formulación de los insumos para los animales de abasto incluidos los alimentos y los productos farmacológicos. Estos principios incluyen el control de la fuente, la manipulación de los materiales utilizados y el diseño de un sistema de elaboración adecuado que contemple:

La normativa, recomendaciones y estándares nacionales e internacionales.

Este es un aspecto primordial que deben cumplir todos los productos farmacéuticos veterinarios ya que, de no ser así, se corre el riesgo de que los productos y subproductos obtenidos de los animales tratados queden fuera de los mercados.

Las Buenas Prácticas de Manufactura.

“Buenas Prácticas de Manufactura es aquella parte del aseguramiento de la calidad que garantiza que los productos sean consistentemente producidos y controlados de acuerdo a los estándares de calidad apropiados al uso al que están destinados y según lo requiera su autorización de comercialización.” WHO Good Manufacturing Practices for Pharmaceutical Products.

Por lo tanto, mantenerse y desarrollar un negocio competitivo como proveedores de alimentos dentro de este contexto presupone además cumplir con los requisitos implícitos y explícitos que los consumidores demandan. Entre esos requisitos los atributos de inocuidad involucran la aplicación de sistemas de aseguramiento de la calidad tales como Buenas Prácticas Agrícolas, Buenas Prácticas de Manufactura, HACCP, determinación de niveles o ausencia de residuos, de pesticidas, de antibióticos, garantía de que los productos farmacológicos utilizados en el control de las enfermedades de los animales cumplen con las normas internacionales.

Dentro de este marco de referencia y en cumplimiento de los objetivos de su creación, PROSAIA convocó a los principales referentes en la materia del organismo regulador SENASA, la Academia y las cámaras representativas a conformar un Grupo Ad-Hoc para la Redacción y Actualización de Guías, Protocolos y Normativas para el Correcto

Desarrollo de Productos Veterinarios, como un aporte para la adecuación a los tiempos que vivimos.

A stylized, handwritten signature in black ink on a light background. The signature consists of several loops and a long horizontal stroke extending to the right.

Dr. Carlos Van Gelderen

A handwritten signature in black ink on a light background. The signature is more cursive and includes a horizontal underline at the end.

Dr. Alejandro Schudel

1. Introducción

1.1. Objetivo de la guía

Como parte del proceso de aprobación de los productos médicos veterinarios para animales productores de alimentos, las autoridades reguladoras solicitan datos de estudios de eliminación del residuo marcador a fin de establecer períodos de espera apropiados en productos comestibles, incluidos la carne, la leche, los huevos y la miel. El objetivo de esta guía es dar recomendaciones sobre el diseño de estudios que faciliten la aceptación universal de los datos generados sobre la eliminación de residuos para alcanzar ese requerimiento.

Las recomendaciones generales que se establecen se aplican a la mayoría de las situaciones en las que es necesario determinar un período de restricción de uso. Con todo, es imprescindible que se tenga en cuenta que pueden existir situaciones en las que resulten inadecuadas o inaplicables. Para ello, la autoridad sanitaria deberá evaluar los diseños específicos que se propongan toda vez que estén debidamente fundamentados. Esta evaluación deberá ser previa al inicio de la experiencia.

1.2. Antecedentes

VICH GL 48 (November 2009) – Marker Residue Depletion Studies.

EMEA/CVMP/036/95-Final (January 1997). Approach Towards Harmonization of Withdrawal Periods.

2. Guía

2.1. Propósito y alcance

Para registrar un producto médico veterinario nuevo, se recomiendan estudios de eliminación del residuo marcador en la especie de destino a fin de:

- demostrar la eliminación del residuo marcador luego del cese del tratamiento farmacológico hasta alcanzar el nivel de seguridad permitido (ej. tolerancia o límite máximo de residuos [LMR]).
- generar la debida información para establecer períodos de espera apropiados a fin de responder a las preocupaciones de sanidad del consumidor.

La idea es que un estudio de eliminación de residuos (por cada especie), llevado a cabo dentro de cualquier región global, sea suficiente para satisfacer los requisitos de información para establecer períodos de espera apropiados de un producto específico en animales productores de alimentos. La guía comprende las especies más comunes, eso es, bovinos, porcinos, ovinos, aves y abejas (como productoras de miel); sin embargo, los principios de esta guía son lo suficientemente flexibles para poder aplicarse a especies relacionadas no mencionadas en este grupo (por ej., ganado vacuno vs. rumiantes en general, pollos vs. aves de corral en general).

En esta guía no se incluyen consideraciones para productos de acuicultura.

Los estudios deben realizarse de acuerdo con los principios aplicables de las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP) y Buenas Prácticas Clínicas (BPC).

2.2. Estudios de eliminación del residuo marcador

2.2.1. Producto en evaluación

El producto en evaluación utilizado debe ser representativo de la formulación comercial. Preferentemente, debe proceder del material elaborado con el uso de buenas prácticas de manufactura (GMP) (a escala piloto o a escala comercial); sin embargo, las preparaciones a escala de laboratorio debidamente documentadas también son aceptables.

2.2.2. Animales y cría de animales

En general, se puede realizar un estudio de eliminación del residuo marcador (en tejidos) en porcinos, equinos y aves de corral. En el caso de los rumiantes, se puede aplicar un solo estudio para animales productores de carne y leche. Sin embargo, debido a las diferencias en la fisiología de rumiantes y pre-rumiantes, se recomiendan estudios separados cuando las especies blanco abarcan tanto a adultos como a pre-rumiantes. Se debe llevar a cabo un estudio separado para demostrar el perfil de eliminación de residuos en la leche de animales lecheros o en los huevos producidos por gallinas.

Los animales deben estar sanos y, preferentemente, no deben haber recibido medicamentos antes. Sin embargo, se puede permitir que los animales reciban vacunas y que hayan sido tratados anteriormente con, por ejemplo, antihelmínticos. En ese último caso, se debe observar un período de reposo farmacológico (*wash-out time*), adecuado a la terapia utilizada en el animal antes de que inicie el ensayo actual. Los animales en evaluación deben ser representativos de las razas comerciales y de la población animal blanco que será tratada. La procedencia, el peso, el estado de salud, la edad y el sexo del animal deben informarse.

Se debe dar a los animales el tiempo suficiente para acostumbrarse a las condiciones experimentales, y se deben aplicar, en la medida de lo posible, buenas prácticas clínicas. Los alimentos y el agua suministrados a los animales deben estar libres de otros fármacos y/o contaminantes y las condiciones ambientales adecuadas deben estar garantizadas, de acuerdo con las prácticas de bienestar animal.

2.2.2.1. Estudios intramamarios

Para los estudios con productos intramamarios, todos los animales deben tener ubres sanas, libres de los efectos de mastitis. Para los estudios de productos que se usan en terapias de secado o parto, los animales preñados con fecha de parición prevista deben ingresar en las instalaciones donde se llevará a cabo el estudio antes de que éste comience.

2.2.2.2. Otros parámetros

En la planificación y realización de los ensayos se deben tener en cuenta todos los factores que puedan contribuir a la variabilidad de los niveles de residuos en los productos de origen animal. La intención es que esos factores (por ej., las razas animales, la madurez física) se consideren sin necesidad de incrementar el número de animales recomendado en 2.2.3. Por ejemplo, si un estudio de eliminación de residuos de la leche recomienda 20 animales, todo factor que determine variabilidad debe estar representado en los 20 animales seleccionados inicialmente (no se agregarán 20 animales más que representen “otros factores”).

2.2.3. Número de animales para el estudio

La cantidad de animales empleados debe ser lo suficientemente numerosa para permitir una evaluación significativa de los datos. Desde un punto de vista estadístico, se recomienda reunir

datos sobre residuos de un mínimo de 16 animales: 4 animales sacrificados en 4 intervalos de tiempo apropiadamente distribuidos. Se puede considerar un número mayor de animales si se anticipa que la variabilidad biológica será sustancial, ya que el incremento en la cantidad puede contribuir a determinar con mayor precisión el período de retiro. No se requieren necesariamente animales control (no tratados) como parte del estudio de eliminación del residuo marcador; sin embargo, se debe disponer de una cantidad suficiente de tejidos blanco para la preparación de patrones en la evaluación de métodos analíticos relacionados. La siguiente sección da recomendaciones generales sobre el número de animales que se deben incluir en el diseño del estudio.

2.2.3.1. Rumiantes, porcinos y equinos para estudios de residuos en tejidos

Se recomiendan por lo menos 4 (aproximadamente la mitad de cada sexo) para cada tiempo de faena. El peso corporal debe ser acorde a la categoría para la cual está indicado el producto. Según lo expuesto en la sección 2.2.2, las vacas lecheras también pueden ser utilizadas para estos estudios de residuos en tejidos.

2.2.3.2. Animales lecheros para estudios de residuos en leche

Para los estudios con animales en lactación, se recomienda el empleo de, por lo menos, 20 animales, seleccionados al azar de un rodeo en el que todas las etapas de la lactación estén representadas. Se deben incluir animales con alta producción al inicio de la lactancia y animales con baja producción al final de la lactancia.

Para los estudios de secado y terapia parto se recomienda un mínimo de 20 animales. El estudio debe incluir vacas seleccionadas al azar, representativas de las prácticas lecheras comerciales.

2.2.3.3. Aves de corral

Se debe utilizar un número suficiente de aves para obtener, por lo menos, 6 muestras en cada tiempo de faena para los estudios de residuos en tejidos.

Para los estudios de residuos en huevos, se debe emplear un número suficiente de aves para recolectar, al menos, 10 o más huevos en cada punto del intervalo de tiempo.

2.2.3.4. Miel de abejas

Se recomienda la recolección de cinco o más muestras de cada una de cinco colmenas. Los tiempos de recolección deben ser coherentes con el período de tratamiento y las prácticas estándar de producción de miel. Las muestras de miel sólo deben tomarse de miel de alzas melarias.

2.2.4. Vía de Administración

2.2.4.1. Guía general

El tratamiento de animales debe realizarse de acuerdo con la etiqueta del producto de destino y debe incluir, en los productos inyectables, el sitio y el método de inyección. En los tratamientos múltiples, las inyecciones deben aplicarse alternativamente en el lado izquierdo y derecho del animal.

La dosis debe ser la máxima concentración prevista de tratamiento y debe administrarse para la máxima duración prevista. Para tratamientos prolongados que incluyen varias dosificaciones, si se dispone de datos que indiquen que la concentración del principio activo alcanza un estado

estacionario (momento en el cual la concentración del principio activo en el tejido blanco no aumenta ni disminuye, porque su velocidad de absorción es igual a su velocidad de eliminación) antes del final del tratamiento, el muestreo puede comenzar a partir de ese momento. Los productos farmacológicos de administración intramamaria deben aplicarse en los cuatro cuartos de cada vaca.

Para los estudios de secado y parto el producto en evaluación debe administrarse luego del último ordeño (secado) y respetando el intervalo hasta el nacimiento del ternero (usualmente 60 días).

Esta guía recomienda el uso de la dosis indicada en el rótulo del producto.

2.2.4.2. Consideraciones para productos elaborados para múltiples vías de administración

Si el producto farmacológico fue elaborado para ser administrado a través de más de una vía parenteral (intramuscular, subcutánea o intravenosa), se debe presentar un estudio de eliminación del residuo marcador por separado. *[Nota: Si el período de espera se define claramente por la eliminación de residuos del sitio de inyección luego de la dosis SC (subcutánea) o IM (intramuscular), no se recomienda presentar un estudio por separado de residuos intravenosos (a la misma dosis), siempre y cuando se pueda aplicar el mismo período de espera (para SC o IM) que se aplicó para la vía IV].*

2.2.4.3. Recomendaciones para la aplicación de un producto por aspersión:

- a- Se deberá cargar el equipo de aspersión con una cantidad previamente medida del producto preparado y listo para su aplicación
- b- Luego de cargada la mochila o equipo de aspersión se deberá purgar el sistema.
- c- Comenzar la aspersión por la parte dorsal del animal y desde la cabeza hacia la cola para luego volver nuevamente hacia craneal por la zona baja contigua, describiendo de esta manera un recorrido que asegure un correcto mojado del animal. Esto se deberá realizar en ambos lados del animal hasta el punto de goteo y siempre evitando aplicar producto en los ojos del animal. El punto de goteo es un indicador de que el animal ha sido correctamente mojado, y que a partir de ahí todo el producto que se aplique no quedara sobre el animal y por lo tanto escurrirá hacia al piso. Este es el parámetro que normalmente se utiliza para tratar animales en condiciones de campo, y uno de los más apropiados para acotar las variables de dosificación que este tipo de aplicaciones tiene.
- d- De ser factible una vez finalizada la aplicación se deberá recolectar en un vaso graduado el producto remanente del equipo de aspersión para calcular el volumen aplicado. Este dato, deberá ser registrado en el “registro de tratamiento de producto”.

$$\text{Volumen cargado} - \text{Volumen remanente} = \text{Volumen aplicado}$$

Volumen aplicado se deberá correlacionar con el peso del animal para conocer de forma certera la dosis aplicada por animal en términos de miligramos totales y miligramos por kilogramo.

2.2.5. Sacrificio animal

Los animales deben sacrificarse siguiendo las normativas de bienestar animal recomendadas por la OIE, empleando de ser posible procedimientos aplicables comercialmente, asegurándose de cumplir con los tiempos de desangrado establecidos. Se debe evitar la muerte con productos químicos.

2.2.6. Muestreo

2.2.6.1. Consideraciones Generales

Luego del sacrificio, se deben recolectar suficientes muestras de tejido comestible, recortar el tejido superfluo, pesar y dividir en porciones. Si el análisis no puede completarse inmediatamente, las muestras deben almacenarse adecuadamente a la espera del análisis. Si las muestras se almacenan luego de la recolección, se debe demostrar la estabilidad del residuo durante el tiempo de evaluación.

La Tabla 1 indica las muestras que se recomienda sean recolectadas en el sacrificio.

Tabla 1. Recolección de muestras de animales en un estudio de eliminación del residuo marcador (Todas las regiones)

Tipo de tejido comestible	Descripción de la muestra por especie	
	Bovinos / Ovinos / Porcinos	Aves de corral
Músculo	Músculo de la región lumbar	Pechuga
Sitio de inyección	Centro de tejido muscular ~0,5 kg. 10 cm. diámetro x 6 cm. de profundidad para IM; 15 cm. diámetro x 2,5 cm. de profundidad para SC	---
Hígado	Sección transversal de lóbulos	Entero
Riñón	Compuesta de ambos riñones	Compuesta de ambos riñones
Grasa (excluyendo porcinos)	Omental y/o perirrenal	---
Piel (porcinos y aves)	Piel con grasa en proporciones naturales	Músculo con piel en proporciones naturales
Leche (ovinos y bovinos)	Leche entera	---
Huevos	---	Limpiar la cáscara, romper el huevo, la clara y la yema se pueden combinar

Los tejidos que se muestran en la Tabla 1 se deben analizar para el registro en todas las regiones. Sin embargo, la guía del VICH para llevar a cabo “Estudios de metabolismo para determinar la cantidad e identificar la naturaleza de los residuos” recomienda la recolección de tejidos adicionales para cuantificar los residuos totales a fin de responder a las preocupaciones regionales específicas. Los tejidos adicionales sugeridos para las muestras se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Tejidos adicionales que se deben recolectar para responder a las preocupaciones regionales en el estudio de eliminación del residuo marcador.

Tipo de tejido comestible	Descripción de las muestra por especie		
	Bovinos / Ovinos / Porcinos	Aves de corral	
Estómago muscular	---	Entero	
Corazón	Sección transversal	Entero	
Intestino Delgado	Compuesto, enjuagado de contenido	---	
Otros órganos	Compuesto	Compuesto	

En caso de considerarse necesario, a los fines de esta guía, se seleccionará uno de los tejidos adicionales (por especie) para evaluar el residuo marcador y responder a las preocupaciones regionales. El tejido adicional elegido se basa en los resultados del estudio de residuo total (TTR, por su sigla en inglés) y típicamente es el tejido adicional con mayor concentración de residuos o con la menor tasa de eliminación de residuos. Por ejemplo, si el estudio TTR indica que el corazón de los bovinos tiene la tasa de eliminación más baja, ese tejido adicional será seleccionado para la evaluación en el estudio del residuo marcador, pero no hará falta generar datos sobre el residuo marcador del intestino delgado. De igual modo, si el estómago muscular de las aves de corral contienen la mayor concentración de residuos, no se recomienda el análisis del corazón de las aves.

2.2.6.2. Sitios de inyección

Para preparaciones parenterales (IM o SC), se deben incluir los datos sobre la eliminación de residuos del sitio (o los sitios) de inyección. Las muestras se deben recolectar del último sitio de inyección. En el caso de productos que requieren múltiples inyecciones, el estudio debe estar diseñado de modo tal que el último sitio de inyección sea del lado en el que el animal recibió el mayor número de inyecciones. Se recomienda mantener una distancia mínima de 10 centímetros entre sitios de inyección con el propósito de obtener una mejor calidad de muestra. La extracción de muestras del tejido muscular del sitio de inyección (de los animales grandes) debe centrarse en el punto de inyección y de acuerdo con las recomendaciones de la Tabla 1.

Durante la realización del estudio de residuos, el sitio de inyección deberá estar permanentemente marcado, de manera que éste pueda ser fácil y correctamente identificado al momento del sacrificio. El producto veterinario deberá ser administrado en el centro del tejido subyacente y el sitio de inyección deberá ser extraído inmediatamente luego del sacrificio.

La técnica de recolección debe ser tal que incluya, cuando sea posible: el trayecto de la aguja, el área en la que se liberó el fármaco y cualquier área en la que haya reacción tisular.

Con el objeto de asegurar que el método de muestreo descrito ha sido adecuado para representar la concentración de residuos, se recomienda cuando sea posible, tomar de cada

sitio de inyección una muestra control de aproximadamente 300 g en forma de anillo concéntrico a la muestra primaria.

La recolección de un círculo adicional o una muestra del lugar que rodea el sitio de inyección durante la realización de estudios de eliminación de residuos tisulares se requieren en la UE, pero generalmente no en otras regiones.

Se reconoce que no siempre es posible obtener esta segunda muestra, particularmente en las inyecciones realizadas en la región del cuello, por lo tanto el tamaño de la muestra de tejido de la región periférica a la muestra primaria puede reducirse tanto como sea posible. Es necesario sin embargo, que esta muestra presente un tamaño que permita su procesamiento analítico.

En los productos inyectables donde la dosis aplicada supere el volumen recomendado por sitio de aplicación, la inyección se deberá realizar en más de un sitio (ej: Dosis IM o SC de 1 mL/10 kg para un animal de 360 Kg donde el volumen máximo recomendado es de 20 mL). En estos casos la muestra de sitio de inyección se deberá realizar del sitio inyectado que recibió el mayor volumen (el sitio donde se inyectó 20 mL y no el del segundo sitio con 16 mL).

En la práctica, la obtención de muestras con el peso exacto al propuesto es difícil de realizar, por lo tanto se acepta que el peso real puede variar dentro de ciertos límites respecto del peso teórico propuesto. Se considera que son aceptables las muestras del centro del sitio de inyección (muestra primaria) que presenten un peso que fluctúe entre 400 g a 600 g ($500 \text{ g} \pm 20\%$).

Seguidamente a la remoción del tejido, las muestras del sitio de inyección colectadas (centro y periferia) deberán ser apropiadamente homogeneizadas antes de realizar el muestreo final (300 g) para la determinación de los residuos, y así evitar el procesamiento analítico de un material potencialmente no homogéneo.

Las dimensiones y los pesos de las muestras de los tejidos en el sitio de inyección propuestas no pueden ser aplicadas en animales de pequeña talla, en donde el tamaño y la anatomía de los mismos no permiten tomar una muestra de 500 g.

Aquí no puede aplicarse una estrategia general, sino que esta debe ser diseñada caso por caso y la técnica de muestreo elegida y el peso del tejido a analizar deberán ser convenientemente justificados. En este caso, también deberá en la medida de lo posible, tomarse una muestra de tejido periférico al sitio de inyección para corroborar la confiabilidad del método analítico utilizado.

Deberá tenerse en cuenta que la concentración de residuos determinada a partir de muestras obtenidas en animales de pequeña talla o muestras de tejido con un peso y tamaño menor al propuesto en esta guía, deberán ser usadas sin ningún tipo de corrección o dilución para el cálculo del tiempo de retiro.

2.2.6.3. Otras consideraciones

- Para las formulaciones que pueden dejar residuos locales, como los productos de aplicación tópica por derrame, se deben recoger muestras de tejidos relevantes (por ej., músculos, grasa subcutánea o piel/grasa del lugar de aplicación) para el análisis (además de las muestras especificadas en la Tabla 1).
- Para mayor claridad, si uno o más tejidos se analiza como tejido compuesto, como piel más grasa en proporciones naturales (porcinos y aves), no hace falta analizar muestras de piel y grasa por separado.

- Las muestras de músculos se pueden obtener de los músculos esqueléticos que incluyan grasa intramuscular en proporciones naturales.
- Se recomienda recoger sólo un tipo de muestra de grasa (omental para rumiantes y equinos) o de piel con grasa (porcinos y aves de corral).

2.2.6.4. Muestreo de leche

Las muestras de leche se deben extraer de todos los animales incluidos en el ensayo. La extracción debe realizarse en cada ordeño, espaciados por intervalos iguales (aproximadamente 12 hs.). Las muestras de cada animal estarán compuestas por leche de los cuatro cuartos. Cuando el tratamiento esté compuesto por varias dosificaciones, las muestras se deben tomar luego de la última dosificación, excepto cuando pueden calificar para tiempos de espera de 0 días, en cuyo caso las muestras también se deben recoger durante el tratamiento. No existe un número estándar de tiempos de muestreo. La recolección de leche debe continuar hasta que los residuos estén por debajo del punto de referencia apropiado (por ej., LMR, tolerancia, límite de cuantificación, etc.) según se determina en las propiedades químicas del fármaco.

Si bien se encuentra fuera del alcance de esta guía, al sponsor se le puede solicitar que analice los residuos en los tejidos de los terneros que se alimentaron de leche (incluido el calostro) de los animales adultos tratados (por ej., las madres), si esos animales serán destinados al consumo humano.

2.2.6.5. Muestreo de huevos

Las muestras de huevos se deben obtener de 10 o más gallinas ponedoras en cada momento en que ponen huevos durante el período de medicación y luego de la última medicación. Las muestras deben recogerse luego del tiempo necesario para que se complete el desarrollo de la yema del huevo, que es de 12 días. La clara y la yema del huevo se pueden combinar para el análisis.

2.2.7. Recomendaciones para los productos propuestos para tiempos de espera de 0 días (Estudios de un solo punto temporal)

Para los productos administrados para uno o varios tratamientos (por ej. diariamente de 3 a 5 días) o para los productos de uso continuo en los que los residuos han alcanzado un estado estable, un estudio de un solo punto temporal es suficiente para determinar el tiempo de espera de 0 días, siempre y cuando las características de eliminación de residuos totales del fármaco hayan sido descriptas adecuadamente. Si esos datos están disponibles, se recomienda la realización de un estudio de un solo punto temporal con el menor número especificado de animales para confirmar la aceptabilidad del tiempo de espera de 0 días.

- Aves de corral: 12 aves
- Animales grandes: 6 animales
- Leche: 10 animales

El momento elegido para el sacrificio para este estudio debe determinarse de acuerdo con las concentraciones máximas observadas durante el estudio de eliminación de residuos totales, un tiempo de transporte mínimo (por ej., no menor de 3 hs.) y un tiempo máximo que siga calificando para tiempo de retiro de 0 días (por ej., ≤ 12 hr).

El número incrementado en comparación con el recomendado en la Sección 2.2.3 se justifica para un solo punto temporal. Sin embargo, para animales lecheros, se recomienda un mínimo de 10 animales, ya que esa cantidad es suficiente para definir la concentración de leche en un solo punto temporal (0 días). Las concentraciones del fármaco que se mantienen por debajo del punto de referencia apropiado (por ej., LMR, tolerancia) se considerarán para el establecimiento de un tiempo de retiro de 0 días.

Mientras que el establecimiento de un tiempo de retiro de 0 días es posible, basándose en un protocolo de muestra de un sólo punto de muestreo (por ej. 12 horas), se recomienda que se recolecten muestras adicionales (por ej. 1-4 ordeñes) para una evaluación exhaustiva del perfil de residuos, en caso de no contar con dicha información. Dado que los estudios de leche no requieren el sacrificio final para la recolección de muestras, esta recomendación debe seguirse sin excepciones.

En el caso de gallinas en producción de huevos, podrá establecerse un tiempo de retiro de cero días a partir de la obtención de muestras consecutivas por debajo del punto de referencia (Límite Máximo de Residuos o tolerancia) durante los 12 días de la etapa de recolección de huevos para su análisis, dadas las condiciones fisiológicas del proceso de ovogénesis.

2.3. Método analítico para ensayos de residuos marcadores

El sponsor se responsabiliza por la presentación de métodos analíticos validados para la determinación del residuo marcador en muestras generadas en los estudios de eliminación de residuos en los tejidos comestibles y, cuando fuera necesario, en leche, huevos y miel. El/Los método(s) deben ser capaces de determinar con fiabilidad las concentraciones del residuo marcador que abarca el punto de referencia apropiado (eso es, LMR /tolerancia) para los respectivos tejidos o productos. (Ver: Guía de Recomendaciones para Validación de Métodos Analíticos).

Fecha de vigencia
Septiembre de 2010

Periodicidad de revisión
10 años