Este texto constitui um instrumento de documentação e não tem qualquer efeito jurídico. As Instituições da União não assumem qualquer responsabilidade pelo respetivo conteúdo. As versões dos atos relevantes que fazem fé, incluindo os respetivos preâmbulos, são as publicadas no Jornal Oficial da União Europeia e encontram-se disponíveis no EUR-Lex. É possível aceder diretamente a esses textos oficiais através das ligações incluídas no presente documento

►B

REGULAMENTO (UE) N.º 283/2013 DA COMISSÃO

de 1 de março de 2013

que estabelece os requisitos em matéria de dados aplicáveis às substâncias ativas, em conformidade com o Regulamento (CE) n.º 1107/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo à colocação de produtos fitofarmacêuticos no mercado

(Texto relevante para efeitos do EEE)

(JO L 93 de 3.4.2013, p. 1)

Alterado por:

		Jornal Oficial		
		n.º	página	data
►M1	Regulamento (UE) n.º 1136/2014 da Comissão de 24 de outubro de 2014	L 307	26	28.10.2014

▼B

REGULAMENTO (UE) N.º 283/2013 DA COMISSÃO

de 1 de março de 2013

que estabelece os requisitos em matéria de dados aplicáveis às substâncias ativas, em conformidade com o Regulamento (CE) n.º 1107/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo à colocação de produtos fitofarmacêuticos no mercado

(Texto relevante para efeitos do EEE)

Artigo 1.º

Requisitos em matéria de dados para as substâncias ativas

Os requisitos em matéria de dados para a substância ativa previstos no artigo 8.º, n.º 1, alínea b), do Regulamento (CE) n.º 1107/2009 são os estabelecidos no anexo do presente regulamento.

Artigo 2.º

Revogação

É revogado o Regulamento (UE) n.º 544/2011.

As referências ao regulamento revogado devem entender-se como sendo feitas ao presente regulamento.

Artigo 3.º

Medidas de transição no que se refere aos procedimentos relativos às substâncias ativas

No que se refere às substâncias ativas, o Regulamento (UE) n.º 544/2011 deve continuar a aplicar-se no que diz respeito ao seguinte:

a) Procedimentos relativos à aprovação de uma substância ativa ou à alteração da aprovação dessa substância nos termos do artigo 13.º do Regulamento (CE) n.º 1107/2009, cujos processos previstos no artigo 8.º, n.º 1 e n.º 2, tenham sido apresentados até 31 de dezembro de 2013;

b) Procedimentos relativos à renovação da aprovação de uma substância ativa nos termos do artigo 20.º do Regulamento (CE) n.º 1107/2009, cujos processos complementares referidos no artigo 9.º do Regulamento (UE) n.º 1141/2010 da Comissão ([1]) tenham sido apresentados até 31 de dezembro de 2013.

Artigo 4.º

Medidas de transição no que se refere aos procedimentos relativos aos produtos fitofarmacêuticos

▼M1

1. Em caso de pedidos de autorização, como referido no artigo 28.º do Regulamento (CE) n.º 1107/2009, relativos a produtos fitofarmacêuticos que contenham uma ou mais substâncias ativas cujos processos tenham sido apresentados em conformidade com o artigo 3.º ou cuja

([1]) JO L 322 de 8.12.2010, p. 10.

▼M1

aprovação não tenha sido renovada em conformidade com o artigo 14.º do Regulamento (CE) n.º 1107/2009 e em conformidade com o Regulamento de Execução (UE) n.º 844/2012 da Comissão [1], o Regulamento (UE) n.º 544/2011 deve continuar a aplicar-se à apresentação de dados relativos a essa(s) substância(s) ativa(s).

▼B

2. Em derrogação ao n.º 1, a partir de 1 de janeiro de 2014, os requerentes podem optar por aplicar os requisitos em matéria de dados constantes do anexo do presente regulamento. Esta opção deve ser indicada por escrito no momento da apresentação do pedido e é irrevogável.

Artigo 5.º

Entrada em vigor e data de aplicação

1. O presente regulamento entra em vigor no vigésimo dia seguinte ao da sua publicação no *Jornal Oficial da União Europeia*.

2. No caso dos procedimentos relativos à renovação da aprovação de substâncias ativas cuja aprovação termina em 1 de janeiro de 2016 ou mais tarde, o presente regulamento é aplicável a partir da data de entrada em vigor.

No que se refere a todos os outros procedimentos, é aplicável a partir de 1 de janeiro de 2014.

O presente regulamento é obrigatório em todos os seus elementos e diretamente aplicável em todos os Estados-Membros.

[1] Regulamento de Execução (UE) n.º 844/2012 da Comissão, de 18 de setembro de 2012, que estabelece as disposições necessárias à execução do procedimento de renovação de substâncias ativas, tal como previsto no Regulamento (CE) n.º 1107/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado (JO L 252 de 19.9.2012, p. 26).

▼B

ANEXO

INTRODUÇÃO

Informações a apresentar, sua produção e sua apresentação

1. As informações apresentadas devem obedecer aos seguintes requisitos:

1.1. As informações devem ser suficientes para avaliar os riscos previsíveis, quer imediatos quer a prazo, que a substância ativa pode apresentar para o ser humano, incluindo grupos vulneráveis, os animais e o ambiente, e conter, pelo menos, as informações relativas aos estudos referidos no presente anexo, bem como os seus resultados.

1.2. Devem incluir-se quaisquer informações sobre os efeitos potencialmente nocivos da substância ativa, dos seus metabolitos e das suas impurezas para a saúde humana e animal e para a água subterrânea.

1.3. Devem incluir-se quaisquer informações sobre os efeitos potencialmente inaceitáveis da substância ativa, dos seus metabolitos e das suas impurezas para o ambiente, os vegetais e os produtos vegetais.

1.4. As informações devem incluir todos os dados relevantes das publicações científicas revistas por peritos avaliadores referentes à substância ativa, aos metabolitos, aos produtos de degradação ou de reação e aos produtos fitofarmacêuticos que contêm a substância ativa e que dizem respeito aos efeitos secundários para a saúde, o ambiente e as espécies não visadas. Deve ser fornecido um resumo destas informações.

1.5. As informações devem incluir um relatório detalhado e objetivo dos estudos efetuados e uma descrição completa dos mesmos. Estas informações não serão necessárias sempre que for cumprida uma das seguintes condições:

a) não são necessárias atendendo à natureza do produto ou às respetivas utilizações propostas, ou não são cientificamente necessárias;

b) não é tecnicamente possível apresentá-las.

Estes casos devem ser devidamente fundamentados.

1.6. Deve ser comunicada a utilização simultânea da substância ativa como biocida ou num medicamento veterinário.

Se o requerente para a substância ativa no produto fitofarmacêutico for idêntico ao responsável pela notificação da substância ativa como biocida ou como medicamento veterinário, deve ser apresentado um resumo de todos os dados pertinentes apresentados para aprovação do biocida ou do medicamento veterinário. Este resumo deve incluir valores toxicológicos de referência e propostas de LMR, tendo em conta qualquer exposição cumulativa eventual devido a utilizações diferentes da mesma substância, com base em métodos científicos aceites pelas autoridades competentes europeias, juntamente com um resumo dos resíduos e dos dados e das informações toxicológicas sobre a utilização do produto.

Se o requerente para a substância ativa no produto fitofarmacêutico não for idêntico ao responsável pela notificação da substância ativa como biocida ou como medicamento veterinário, deve ser apresentado um resumo de todos os dados disponíveis.

▼B

1.7. Sempre que pertinente, as informações devem ser produzidas com recurso a métodos de ensaio, incluídos na lista referida no ponto 6. Na ausência de orientações de ensaio adequadas validadas a nível internacional ou nacional, devem ser utilizadas orientações de ensaio aceites pela autoridade europeia competente. Quaisquer desvios devem ser descritos e justificados.

1.8. As informações devem incluir uma descrição completa dos métodos de ensaio utilizados.

1.9. As informações devem incluir uma lista de parâmetros para a substância ativa.

1.10. Sempre que pertinente, as informações devem ser produzidas nos termos da Diretiva 2010/63/UE do Parlamento Europeu e do Conselho ([1]).

1.11. As informações sobre a substância ativa, juntamente com as informações sobre um ou mais produtos fitofarmacêuticos que contenham a substância ativa e, se adequado, em conjunto com as informações relativas aos fitoprotetores, agentes sinergéticos e outros componentes do produto fitofarmacêutico, devem ser suficientes para:

a) permitir avaliar os riscos para o ser humano associados ao manuseamento e à utilização de produtos fitofarmacêuticos que contenham a substância ativa;

b) permitir uma avaliação dos riscos para a saúde humana e animal decorrentes dos resíduos da substância ativa e dos seus metabolitos, impurezas e produtos de degradação e reação que permanecem na água, no ar, nos géneros alimentícios e nos alimentos para animais;

c) prever a distribuição, destino e comportamento no ambiente da substância ativa e seus metabolitos e produtos de degradação e de reação, sempre que estes se revistam de significância toxicológica ou ambiental, bem como a evolução temporal envolvida;

d) permitir uma avaliação do impacto sobre as espécies não visadas (flora e fauna), incluindo o impacto no respetivo comportamento, suscetíveis de serem expostas à substância ativa e seus metabolitos e produtos de degradação e de reação, sempre que estes se revistam de significância toxicológica ou ambiental. O impacto pode resultar de exposição única, prolongada ou repetida e pode ser direto ou indireto, reversível ou irreversível;

e) avaliar o impacto na biodiversidade e no ecossistema;

f) identificar as espécies não visadas e as populações quanto aos perigos decorrentes de uma potencial exposição;

g) permitir uma avaliação dos riscos a curto e a longo prazo para as espécies não visadas, populações, comunidades e processos;

([1]) JO L 276 de 20.10.2010, p. 33.

▼B

h) classificar a substância ativa relativamente ao perigo que representa em conformidade com o Regulamento (CE) n.º 1272/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho ([1]);

i) especificar os pictogramas, as palavras-sinal e as advertências de perigo e recomendações de prudência relevantes no que se refere à proteção do ser humano, das espécies não visadas e do ambiente, que devem ser utilizados para fins de rotulagem;

j) estabelecer, sempre que relevante, uma dose diária admissível (DDA) para o ser humano;

k) estabelecer os níveis aceitáveis de exposição do operador (NAEO);

l) estabelecer, sempre que relevante, uma dose aguda de referência (DAR) para o ser humano;

m) identificar as medidas de primeiros socorros pertinentes, bem como as medidas adequadas de diagnóstico e tratamento a tomar em caso de envenenamento no ser humano;

n) definir a composição isomérica e a conversão metabólica possível dos isómeros, sempre que relevante;

o) estabelecer definições de resíduos adequadas para a avaliação do risco;

p) estabelecer definições de resíduos adequadas para fins de monitorização e de controlo da aplicação dos requisitos;

q) permitir uma avaliação do risco de exposição do consumidor incluindo, sempre que relevante, uma avaliação do risco cumulativo decorrente da exposição a mais de uma substância ativa;

r) permitir uma estimativa da exposição dos operadores, trabalhadores, residentes e outras pessoas que se encontrem nas proximidades incluindo, sempre que relevante, a exposição cumulativa a mais de uma substância ativa;

s) definir limites máximos de resíduos e fatores de concentração/diluição em conformidade com o Regulamento (CE) n.º 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho ([2]);

t) permitir uma avaliação da natureza e extensão dos riscos para o ser humano, os animais (espécies normalmente alimentadas e criadas pelo ser humano ou animais produtores de alimentos) e para outras espécies de vertebrados não visadas;

u) identificar as medidas necessárias para minimizar a contaminação do ambiente e o impacto nas espécies não visadas;

([1]) JO L 353 de 31.12.2008, p. 1.
([2]) JO L 70 de 16.3.2005, p. 1.

▼B

v) decidir se a substância ativa deve ou não ser considerada como um poluente orgânico persistente (POP), um poluente persistente, bioacumulável e tóxico (PBT), ou um poluente muito persistente ou muito bioacumulável (mPmB), em conformidade com os critérios estabelecidos no anexo II do Regulamento (CE) n.º 1107/2009;

w) decidir se a substância ativa deve ou não ser considerada como um candidato a substituição, em conformidade com os critérios estabelecidos no anexo II do Regulamento (CE) n.º 1107/2009;

x) decidir se a substância ativa deve ou não ser considerada como uma substância ativa de baixo risco, em conformidade com os critérios estabelecidos no anexo II do Regulamento (CE) n.º 1107/2009;

y) decidir se a substância ativa pode ou não ser aprovada;

z) especificar as condições ou restrições a associar a uma eventual aprovação.

1.12. Quando pertinente, os ensaios devem ser concebidos e os dados analisados através de métodos estatísticos adequados.

1.13. Os cálculos da exposição devem fazer referência aos métodos científicos aceites pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos («Autoridade»), sempre que estes estejam disponíveis. Os métodos adicionais, quando utilizados, devem ser fundamentados.

1.14. Para cada secção em que se dividem os requisitos em termos de dados, deve ser apresentado um resumo de todos os dados, informações e avaliações. Este resumo deve incluir uma avaliação pormenorizada e crítica de acordo com as disposições do artigo 4.º do Regulamento (CE) n.º 1107/2009.

2. Os requisitos definidos no presente regulamento devem representar os dados mínimos a apresentar. Podem ser necessários requisitos adicionais a nível nacional em circunstâncias especiais, ou seja, cenários específicos, padrões de utilização que não os tidos em conta para a aprovação. Deve ser prestada uma atenção especial às condições ambientais, climatéricas e agronómicas quando as autoridades competentes definirem e aprovarem os ensaios.

3. **Boas práticas de Laboratório (BPL)**

3.1. Os ensaios e análises devem ser realizados em conformidade com os princípios definidos na Diretiva 2004/10/CE do Parlamento Europeu e do Conselho [1], quando sejam realizados ensaios e estudos para obter dados relativos às propriedades e/ou segurança para a saúde pública, a saúde animal e o ambiente.

3.2. Em derrogação ao disposto no ponto 3.1:

3.2.1. No que diz respeito às substâncias ativas constituídas por microrganismos ou vírus, os ensaios e análises realizados para obter dados sobre as propriedades e a segurança relativamente a matérias que

[1] JO L 50 de 20.2.2004, p. 44.

▼B

não a saúde humana podem ser efetuados por organizações ou laboratórios oficiais ou oficialmente reconhecidos que satisfaçam, pelo menos, as exigências dos pontos 3.2 e 3.3 da introdução do anexo do Regulamento (UE) n.º 284/2013 da Comissão ([1]).

3.2.2. No que se refere aos ensaios e análises realizados no sentido de obter dados para culturas menores, exigidos ao abrigo da parte A, pontos 6.3 e 6.5.2:

— a fase de campo pode ter sido realizada por organizações ou laboratórios oficiais ou oficialmente reconhecidos que satisfaçam, pelo menos, as exigências dos pontos 3.2 e 3.3 da introdução do anexo do Regulamento (UE) n.º 284/2013,

— a fase analítica, se não for efetuada em conformidade com os requisitos das BPL, deve ser realizada por laboratórios acreditados para o método relevante segundo a Norma Europeia EN ISO/IEC 17025 «Requisitos gerais relativos à competência dos laboratórios de ensaio e de calibração».

3.2.3. Os estudos realizados antes da aplicação do presente regulamento, apesar de não cumprirem plenamente os requisitos de BPL ou os métodos de ensaio atuais, podem ser integrados na avaliação, se tiverem sido aceites pelas autoridades competentes como válidos cientificamente, eliminando, assim, a necessidade de repetir ensaios em animais, em especial estudos de carcinogenicidade e de toxicidade para a reprodução. Esta derrogação aplica-se a estudos sobre todas as espécies vertebradas.

4. **Material de ensaio**

4.1. Deve ser fornecida uma descrição pormenorizada (especificações) do material utilizado. Aquando da realização de ensaios com a substância ativa, o material utilizado deve respeitar as especificações que serão utilizadas no fabrico dos produtos fitofarmacêuticos a autorizar, exceto quando seja empregue material marcado radioativamente ou a substância ativa purificada.

4.2. Sempre que sejam realizados com uma substância ativa produzida no laboratório ou num sistema-piloto de produção, os estudos devem ser repetidos com a substância ativa produzida à escala industrial, exceto se o requerente demonstrar que, para efeitos de ensaio e avaliação toxicológica, ecotoxicológica, ambiental e de resíduos, o material utilizado no ensaio é essencialmente o mesmo. Em caso de dúvida, devem ser apresentados estudos de interligação que permitam decidir quanto à eventual necessidade de repetição dos estudos.

4.3. Sempre que sejam efetuados estudos com recurso a uma substância ativa de pureza diferente ou que contenha impurezas diferentes ou níveis de impurezas diferentes das especificações técnicas, ou sempre que a substância ativa seja uma mistura de componentes, a significância das diferenças deve ser analisada através de dados ou casos científicos. Em caso de dúvida, devem ser apresentados estudos adequados que utilizem a substância ativa tal como fabricada para produção comercial para servir de base para uma decisão.

4.4. No caso de estudos em que a administração se prolongue por um certo período (por exemplo estudos de administração repetida), deve ser utilizado um único lote de substância ativa, se a estabilidade o permitir. Sempre que um ensaio implique a utilização de diferentes doses, deve ser indicada a relação entre as doses e os efeitos adversos,

([1]) Ver página 85 do presente Jornal Oficial.

▼B

4.5. Quando forem efetuados estudos utilizando a substância ativa purificada (≥980 g/kg) correspondente a uma determinada especificação, a pureza desse material de ensaio deve ser a mais elevada que é possível obter-se com recurso à melhor tecnologia disponível e este facto deve ser indicado. Devem ser apresentadas uma justificação nos casos em que o grau de pureza alcançado seja inferior a 980 g/kg. Essa justificação deve demonstrar que foram esgotadas todas as possibilidades tecnicamente possíveis e razoáveis de produção da substância ativa purificada.

4.6. Aquando da utilização de material de ensaio marcado radioativamente, os marcadores radioativos devem estar colocados em locais (um ou mais, conforme necessário) para facilitar o esclarecimento das vias metabólicas e de transformação e a investigação da distribuição da substância ativa e dos seus metabolitos e produtos de degradação e de reação.

5. **Ensaios em animais vertebrados**

5.1. Os ensaios em animais vertebrados devem ser realizados apenas quando não existam outros métodos validados. Os métodos alternativos a considerar devem incluir métodos *in vitro* e *in silico*. Os métodos de redução e aperfeiçoamento para os ensaios *in vitro* devem também ser incentivados para manter no mínimo o número de animais utilizados nos ensaios.

5.2. Os princípios da substituição, redução e aperfeiçoamento da utilização de animais devem ser tidos em conta na conceção dos métodos de ensaio, nomeadamente sempre que se tornem disponíveis métodos adequados, validados para substituir, reduzir ou aperfeiçoar os ensaios com animais.

5.3. Para fins do presente regulamento, não devem ser realizados ensaios que envolvam a administração deliberada da substância ativa ou do produto fitofarmacêutico ao ser humano e a primatas não humanos.

5.4. Por razões de ética, a conceção dos estudos deve ser cuidadosamente considerada, tendo em conta o objetivo de redução, aperfeiçoamento e substituição dos ensaios com animais. Por exemplo, incluir um ou mais grupos de dose ou momentos adicionais de colheita de sangue num estudo pode evitar a necessidade de realização de outro estudo.

6. Para efeitos de informação e harmonização, a lista de métodos de ensaio e de documentos de orientação pertinentes para a execução do presente regulamento deve ser publicada no *Jornal oficial da União Europeia*. A lista será atualizada regularmente.

PARTE A

SUBSTÂNCIAS ATIVAS QUÍMICAS

ÍNDICE

SECÇÃO 1. ***Identidade da substância ativa***

1.1. Requerente

1.2. Produtor

1.3. Nome vulgar proposto ou aceite pela ISO e sinónimos

1.4. Nome químico (Nomenclatura IUPAC e CA)

1.5. Números de código de desenvolvimento do produtor

▼B

1.6.	Números CAS, CE e CIPAC
1.7.	Fórmula molecular e de estrutura, massa molar
1.8.	Método de fabrico (processo de síntese) da substância ativa
1.9.	Especificação da pureza da substância ativa expressa em g/kg
1.10.	Identidade e teor de aditivos (tais como estabilizantes) e impurezas
1.10.1.	Aditivos
1.10.2.	Impurezas significativas
1.10.3.	Impurezas relevantes
1.11.	Características analíticas dos lotes
SECÇÃO 2.	***Propriedades físicas e químicas da substância ativa***
2.1.	Ponto de fusão e ponto de ebulição
2.2.	Pressão do vapor, volatilidade
2.3.	Aspeto (estado físico, cor)
2.4.	Espetros (UV/VIS, IR, RMN, MS), extinção molar em comprimentos de onda relevantes, pureza ótica
2.5.	Solubilidade na água
2.6.	Solubilidade em solventes orgânicos
2.7.	Coeficiente de partição n-octanol/água
2.8.	Dissociação em água
2.9.	Inflamabilidade e auto-inflamabilidade
2.10.	Ponto de inflamabilidade
2.11.	Propriedades explosivas
2.12.	Tensão superficial
2.13.	Propriedades oxidantes
2.14.	Outros estudos
SECÇÃO 3.	***Informações adicionais sobre a substância ativa***
3.1.	Utilização da substância ativa
3.2.	Função
3.3.	Efeitos sobre os organismos nocivos
3.4.	Domínio de utilização previsto

▼B

3.5.	Organismos nocivos controlados e culturas ou produtos protegidos ou tratados
3.6.	Modo de ação
3.7.	Informações sobre a ocorrência ou possível ocorrência de desenvolvimento de resistência e estratégias de gestão adequadas
3.8.	Métodos e precauções relativos ao manuseamento, armazenagem, transporte ou incêndio
3.9.	Processos de destruição ou descontaminação
3.10.	Medidas de emergência em caso de acidente
SECÇÃO 4.	***Métodos de análise***
Introdução	
4.1.	Métodos utilizados para a criação dos dados pré-aprovação
4.1.1.	Métodos de análise da substância ativa técnica
4.1.2.	Métodos de avaliação do risco
4.2.	Métodos de controlo e monitorização pós-aprovação
SECÇÃO 5.	***Estudos toxicológicos e de metabolismo***
Introdução	
5.1.	Estudos relativos à absorção, distribuição, metabolismo e excreção em mamíferos
5.1.1.	Absorção, distribuição, metabolismo e excreção após exposição por via oral
5.1.2.	Absorção, distribuição, metabolismo e excreção após exposição por outras vias
5.2.	Toxicidade aguda
5.2.1.	Via oral
5.2.2.	Via cutânea
5.2.3.	Via inalatória
5.2.4.	Irritação cutânea
5.2.5.	Irritação ocular
5.2.6.	Sensibilização cutânea
5.2.7.	Fototoxicidade
5.3.	Toxicidade a curto prazo

▼B

5.3.1.	Estudo de toxicidade por via oral de 28 dias
5.3.2.	Estudo de toxicidade por via oral de 90 dias
5.3.3.	Outras vias
5.4.	Ensaio de genotoxicidade
5.4.1.	Estudos *in vitro*
5.4.2.	Estudos *in vivo* em células somáticas
5.4.3.	Estudos *in vivo* em células germinativas
5.5.	Toxicidade e carcinogenicidade a longo prazo
5.6.	Toxicidade para a reprodução
5.6.1.	Estudos geracionais
5.6.2.	Estudos de toxicidade para o desenvolvimento
5.7.	Estudos de neurotoxicidade
5.7.1.	Estudo de neurotoxicidade em roedores
5.7.2.	Estudos de polineuropatia retardada
5.8.	Outros estudos toxicológicos
5.8.1.	Estudos de toxicidade dos metabolitos
5.8.2.	Estudos complementares da substância ativa
5.8.3.	Propriedades perturbadoras do sistema endócrino
5.9.	Dados médicos
5.9.1.	Vigilância médica do pessoal das instalações fabris e estudos de monitorização
5.9.2.	Dados recolhidos em humanos
5.9.3.	Observações diretas
5.9.4.	Estudos epidemiológicos
5.9.5.	Diagnóstico de envenenamento (determinação da substância ativa, metabolitos), sinais específicos de envenenamento, testes clínicos
5.9.6.	Tratamento proposto: medidas de primeiros socorros, antídotos, tratamento clínico
5.9.7.	Efeitos previsíveis do envenenamento
SECÇÃO 6.	***Resíduos no interior e à superfície de produtos, géneros alimentícios e alimentos para animais, tratados***
6.1.	Estabilidade dos resíduos na armazenagem
6.2.	Metabolismo, distribuição e expressão de resíduos
6.2.1.	Vegetais
6.2.2.	Aves de capoeira

▼B

6.2.3.	Ruminantes lactantes
6.2.4.	Suínos
6.2.5.	Peixes
6.3.	Ensaios da magnitude dos resíduos nos vegetais
6.4.	Estudos alimentares com animais
6.4.1.	Aves de capoeira
6.4.2.	Ruminantes
6.4.3.	Suínos
6.4.4.	Peixes
6.5.	Efeitos da transformação
6.5.1.	Natureza dos resíduos
6.5.2.	Distribuição do resíduo na casca não comestível e na polpa
6.5.3.	Magnitude dos resíduos em produtos transformados
6.6.	Resíduos em culturas rotativas
6.6.1.	Metabolismo em culturas rotativas
6.6.2.	Magnitude dos resíduos em culturas rotativas
6.7.	Definições de resíduos e limites máximos de resíduos propostos
6.7.1.	Definições de resíduos propostas
6.7.2.	Limites máximos de resíduos (LMR) propostos e justificação da aceitabilidade dos limites propostos
6.7.3.	Limites máximos de resíduos (LMR) propostos e justificação da aceitabilidade dos limites propostos para produtos importados (tolerância de importação)
6.8.	Intervalos de segurança propostos
6.9.	Estimativa da exposição potencial e real através do regime alimentar e por outras fontes
6.10.	Outros estudos
6.10.1.	Resíduos no pólen e produtos apícolas
SECÇÃO 7.	***Destino e comportamento no ambiente***
7.1.	Destino e comportamento no solo
7.1.1.	Via de degradação no solo
7.1.1.1.	Degradação aeróbia
7.1.1.2.	Degradação anaeróbia
7.1.1.3.	Fotólise no solo

▼B

7.1.2.	Taxa de degradação no solo
7.1.2.1.	Estudos laboratoriais
7.1.2.1.1.	Degradação aeróbia da substância ativa
7.1.2.1.2.	Degradação aeróbia dos metabolitos e produtos da degradação e reação
7.1.2.1.3.	Degradação anaeróbia da substância ativa
7.1.2.1.4.	Degradação anaeróbia dos metabolitos e produtos da degradação e reação
7.1.2.2.	Estudos de campo
7.1.2.2.1.	Estudos de dissipação no solo
7.1.2.2.2.	Estudos de acumulação no solo
7.1.3.	Adsorção e dessorção no solo
7.1.3.1.	Adsorção e dessorção
7.1.3.1.1.	Adsorção e dessorção da substância ativa
7.1.3.1.2.	Adsorção e dessorção dos metabolitos e produtos da degradação e reação
7.1.3.2.	Sorção a prazo
7.1.4.	Mobilidade no solo
7.1.4.1.	Estudos de lixiviação em coluna
7.1.4.1.1.	Lixiviação em coluna da substância ativa
7.1.4.1.2.	Lixiviação em coluna dos metabolitos e produtos da degradação e reação
7.1.4.2.	Estudos em lisímetros
7.1.4.3.	Estudos de lixiviação no campo
7.2.	Destino e comportamento na água e no sedimento
7.2.1.	Via e taxa de degradação em sistemas aquáticos (degradação química e fotoquímica)
7.2.1.1.	Degradação hidrolítica
7.2.1.2.	Degradação fotoquímica direta
7.2.1.3.	Degradação fotoquímica indireta
7.2.2.	Via e taxa de degradação biológica em sistemas aquáticos
7.2.2.1.	«Biodegradabilidade imediata»
7.2.2.2.	Mineralização aeróbia nas águas superficiais
7.2.2.3.	Estudo água/sedimento

▼B

7.2.2.4.	Estudo água/sedimento irradiados
7.2.3.	Degradação na zona saturada
7.3.	Destino e comportamento no ar
7.3.1.	Via e taxa de degradação no ar
7.3.2.	Transporte através do ar
7.3.3.	Efeitos locais e globais
7.4.	Definição de resíduo
7.4.1.	Definição de resíduos para efeitos de avaliação do risco
7.4.2.	Definição de resíduos para efeitos de monitorização
7.5.	Dados de monitorização
SECÇÃO 8.	***Estudos ecotoxicológicos***
Introdução	
8.1.	Efeitos em aves e outros vertebrados terrestres
8.1.1.	Efeitos em aves
8.1.1.1.	Toxicidade aguda por via oral para aves
8.1.1.2.	Toxicidade alimentar a curto prazo para aves
8.1.1.3.	Toxicidade subcrónica e reprodutiva para aves
8.1.2.	Efeitos em vertebrados terrestres, excluindo as aves
8.1.2.1.	Toxicidade aguda por via oral para mamíferos
8.1.2.2.	Toxicidade a longo prazo e reprodutiva para mamíferos
8.1.3.	Bioconcentração da substância ativa em presas de aves e mamíferos
8.1.4.	Efeitos em vertebrados terrestres selvagens (aves, mamíferos, répteis e anfíbios)
8.1.5.	Propriedades perturbadoras do sistema endócrino
8.2.	Efeitos em organismos aquáticos
8.2.1.	Toxicidade aguda em peixes
8.2.2.	Toxicidade a longo prazo e crónica para peixes
8.2.2.1.	Ensaios de toxicidade nas primeiras fases da vida dos peixes
8.2.2.2.	Ensaio do ciclo de vida completo dos peixes
8.2.2.3.	Bioconcentração em peixes
8.2.3.	Propriedades perturbadoras do sistema endócrino

▼B

8.2.4.	Toxicidade aguda em invertebrados aquáticos
8.2.4.1.	Toxicidade aguda para *Daphnia magna*
8.2.4.2.	Toxicidade aguda para uma outra espécie de invertebrados aquáticos
8.2.5.	Toxicidade a longo prazo e crónica para invertebrados aquáticos
8.2.5.1.	Toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento para *Daphnia magna*
8.2.5.2.	Toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento para uma outra espécie de invertebrados aquáticos
8.2.5.3.	Desenvolvimento e emergência em *Chironomus riparius*
8.2.5.4.	Organismos dos sedimentos
8.2.6.	Efeitos sobre o crescimento das algas
8.2.6.1.	Efeitos sobre o crescimento de algas verdes
8.2.6.2.	Efeitos sobre o crescimento de uma outra espécie de algas
8.2.7.	Efeitos sobre os macrófitos aquáticos
8.2.8.	Outros ensaios em organismos aquáticos
8.3.	Efeitos em artrópodes
8.3.1.	Efeitos em abelhas
8.3.1.1.	Toxicidade aguda em abelhas
8.3.1.1.1.	Toxicidade aguda por via oral
8.3.1.1.2.	Toxicidade aguda por contacto
8.3.1.2.	Toxicidade crónica para abelhas
8.3.1.3.	Efeitos sobre o desenvolvimento das abelhas e outras fases da vida das abelhas
8.3.1.4.	Efeitos subletais
8.3.2.	Efeitos em artrópodes não visados, excluindo as abelhas
8.3.2.1.	Efeitos sobre *Aphidius rhopalosiphi*
8.3.2.2.	Efeitos sobre *Typhlodromus pyri*
8.4.	Efeitos na mesofauna e na macrofauna do solo não visada
8.4.1.	Minhocas - efeitos subletais
8.4.2.	Efeitos na mesofauna e na macrofauna do solo não visada (exceto minhocas)
8.4.2.1.	Ensaio a nível da espécie

▼B

8.5. Efeitos na transformação do azoto do solo

8.6. Efeitos em plantas terrestres mais avançadas não visadas

8.6.1. Resumo dos dados da triagem

8.6.2. Ensaios em plantas não visadas

8.7. Efeitos noutros organismos terrestres (flora e fauna)

8.8. Efeitos nos métodos biológicos de tratamento das águas residuais

8.9. Dados de monitorização

SECÇÃO 9. ***Dados relativos à literatura***

SECÇÃO 10. ***Classificação e rotulagem***

SECÇÃO 1

Identidade da substância ativa

As informações fornecidas devem ser suficientes para identificar com precisão cada substância ativa e defini-la em termos das suas especificações e da sua natureza.

1.1. **Requerente**

Devem ser indicados o nome e o endereço do requerente, bem como o nome, cargo e números de telefone e de fax e endereço de correio eletrónico de um ponto de contacto.

1.2. **Produtor**

Devem ser indicados o nome e o endereço do produtor da substância ativa, bem como o nome e endereço de cada fábrica que produza a substância ativa. Deve ser indicado um ponto de contacto (nome, telefone, endereço de correio eletrónico e fax). Quando, após a aprovação da substância ativa, se registarem alterações na localização ou no número dos produtores, as informações exigidas devem ser de novo notificadas à Comissão, à Autoridade e aos Estados-Membros.

1.3. **Nome vulgar proposto ou aceite pela ISO e sinónimos**

Deve ser indicado o nome vulgar da Organização Internacional de Normalização (ISO), atual ou proposto e, quando pertinente, outros nomes vulgares propostos ou aceites (sinónimos) incluindo o nome (título) da autoridade responsável por essa nomenclatura.

1.4. **Nome químico (Nomenclatura IUPAC e CA)**

Deve ser indicado o nome químico tal como consta do anexo VI, parte III, do Regulamento (CE) n.º 1272/2008 ([1]) ou, se não estiver incluído naquele regulamento, em conformidade com a nomenclatura da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) e do *Chemical Abstracts* (CA), se aplicável.

1.5. **Números de código de desenvolvimento do produtor**

Devem ser indicados os números de código utilizados para identificar a substância ativa e, quando disponíveis, as formulações que contêm a substância ativa durante o trabalho de desenvolvimento. Relativamente a cada número de código indicado, deve mencionar-se qual o material a que se refere, o período durante o qual foi utilizado e os Estados-Membros ou outros países em que foi ou está a ser utilizado.

([1]) JO L 353 de 31.12.2008, p. 1.

▼B

1.6. **Números CAS, CE e CIPAC**

Devem ser comunicados os números do *Chemical Abstracts Service* (CAS), da Comissão Europeia (CE) e do *Collaborative International Pesticides Analytical Council* (CIPAC), quando existam.

1.7. **Fórmula molecular e de estrutura, massa molar**

Devem ser indicadas a fórmula molecular, a massa molar e a fórmula de estrutura da substância ativa e, quando pertinente, a fórmula de estrutura de cada isómero presente na substância ativa

Para extratos vegetais pode ser empreendida uma abordagem diferente adequadamente justificada.

1.8. **Método de fabrico (processo de síntese) da substância ativa**

Deve ser indicado, relativamente a cada fábrica, o método de fabrico, em termos da identidade (nome, número CAS, fórmula de estrutura) e a pureza dos materiais iniciais, a sua disponibilidade comercial, os processos químicos envolvidos e a identidade das impurezas presentes no produto final. Devem ser apresentadas informações pormenorizadas referentes à origem dessas impurezas. Cada impureza deve ser classificada como resultante de reações secundárias, impurezas no material inicial, produtos intermédios da reação remanescentes ou materiais iniciais. Deve ser abordada a sua importância toxicológica, ecotoxicológica e ambiental. Estas informações devem também incluir impurezas que não são detetadas mas são teoricamente suscetíveis de se formar. Em geral, não são necessárias informações no domínio da engenharia de processos.

Quando as informações exigidas forem fornecidas relativamente a um sistema de produção-piloto, essas informações devem ser notificadas de novo quando os métodos e as técnicas de produção à escala industrial tiverem estabilizado. Sempre que disponíveis, os dados à escala industrial devem ser apresentados antes da aprovação nos termos do Regulamento (CE) n.º 1107/2009. Quando não existirem dados à escala de produção industrial, deve ser fornecida uma justificação.

1.9. **Especificação da pureza da substância ativa expressa em g/kg**

Deve ser indicado o teor mínimo em g/kg de substância ativa pura no material fabricado utilizado na produção de produtos fitofarmacêuticos. Deve ser apresentada uma justificação para o teor mínimo proposto nas especificações, que deve incluir uma análise estatística dos dados relativos a, pelo menos, cinco lotes representativos, tal como referido no ponto 1.11. Podem ser apresentados dados adicionais de apoio para melhor justificar as especificações técnicas.

Quando as informações exigidas forem fornecidas relativamente a um sistema de produção-piloto, essas informações devem ser notificadas de novo quando os métodos e as técnicas de produção à escala industrial tiverem estabilizado. Sempre que disponíveis, os dados à escala industrial devem ser apresentados antes da aprovação nos termos do Regulamento (CE) n.º 1107/2009. Quando não existirem dados à escala de produção industrial, deve ser fornecida uma justificação.

Se a substância ativa for fabricada como um concentrado técnico (TK), deve indicar-se o teor mínimo e máximo da substância ativa pura, juntamente com o seu teor no peso seco teórico do material.

Se a substância ativa for constituída por uma mistura de isómeros, de indicar-se o rácio ou a gama de rácio do teor de isómeros. Deve ser comunicada a atividade biológica relativa de cada isómero, em termos de eficácia e de toxicidade.

Para extratos vegetais pode ser empreendida uma abordagem diferente adequadamente justificada.

▼B

1.10. **Identidade e teor de aditivos (tais como estabilizantes) e impurezas**

Devem ser indicados o teor mínimo e o teor máximo em g/kg de cada aditivo.

Deve também ser indicado o teor máximo em g/kg de cada componente adicional que não os aditivos.

Se a substância ativa for fabricada como um concentrado técnico (TK), deve indicar-se o teor máximo de cada impureza, juntamente com o respetivo teor no peso seco teórico do material.

Os isómeros que não façam parte do nome comum ISO são considerados como impurezas.

Quando as informações fornecidas não permitam identificar completamente um componente (por exemplo, produtos de condensação), devem ser apresentados dados pormenorizados sobre a composição de cada componente.

Quando as informações exigidas forem fornecidas relativamente a um sistema de produção-piloto, essas informações devem ser notificadas de novo quando os métodos e as técnicas de produção à escala industrial tiverem estabilizado. Sempre que disponíveis, os dados à escala industrial devem ser apresentados antes da aprovação nos termos do Regulamento (CE) n.º 1107/2009. Quando não existirem dados à escala de produção industrial, deve ser fornecida uma justificação.

Para extratos vegetais pode ser empreendida uma abordagem diferente adequadamente justificada.

1.10.1. *Aditivos*

Deve ser também indicada a designação comercial dos componentes adicionados à substância ativa antes do fabrico do produto fitofarmacêutico para preservar a estabilidade e a facilitar a manipulação dos a seguir designados «aditivos». Devem ser fornecidas as seguintes informações, quando pertinente, em relação a esses aditivos:

a) nome químico de acordo com a nomenclatura IUPAC e CA;

b) nome vulgar ISO ou nome vulgar proposto, caso exista;

c) número CAS, número CE;

d) fórmula molecular e de estrutura;

e) massa molar;

f) teor mínimo e máximo, em g/kg; e

g) função (por exemplo, estabilizante).

1.10.2. *Impurezas significativas*

As impurezas presentes em quantidades iguais ou superiores a 1 g/kg devem ser consideradas como significativas. Para as impurezas significativas, devem ser fornecidas, quando pertinente, as seguintes informações:

a) nome químico de acordo com a nomenclatura IUPAC e CA;

b) nome vulgar ISO ou nome vulgar proposto, caso exista;

c) número CAS, número CE;

▼B

d) fórmula molecular e de estrutura;

e) massa molar; e

f) teor máximo, em g/kg.

Devem ser apresentadas informações sobre a forma como foi determinada a identidade estrutural das impurezas.

1.10.3. *Impurezas relevantes*

As impurezas especialmente indesejadas atendendo às suas propriedades toxicológicas, ecotoxicológicas ou ambientais devem ser consideradas como relevantes. Para as impurezas relevantes, devem ser fornecidas, quando pertinente, as seguintes informações:

a) nome químico de acordo com a nomenclatura IUPAC e CA;

b) nome vulgar ISO ou nome vulgar proposto, caso exista;

c) número CAS, número CE;

d) fórmula molecular e de estrutura;

e) massa molar; e

f) teor máximo, em g/kg.

Devem ser comunicadas informações sobre a forma como foi determinada a identidade estrutural das impurezas.

1.11. **Características analíticas dos lotes**

Devem ser analisados pelo menos cinco lotes representativos da produção à escala industrial recente e atual da substância ativa para determinação do teor de substância ativa pura, de impurezas, de aditivos e de qualquer outro componente para além dos aditivos, se adequado. Todos os lotes representativos devem ter sido fabricados nos últimos cinco anos. Quando não existirem dados sobre a produção dos últimos cinco anos, deve ser fornecida uma justificação. Os resultados analíticos registados devem incluir dados quantitativos referentes ao teor, expresso em g/kg, de todos os componentes presentes em quantidades iguais ou superiores a 1 g/kg e que tipicamente correspondem a pelo menos 980 g/kg do material analisado. Para extratos vegetais e substâncias semioquímicas (tais como feromonas) podem ser previstas exceções justificadas. A base estatística para o teor proposto nas especificações técnicas deve ser explicada (por exemplo, teor máximo constatado na prática, teor médio mais três desvios-padrão constatados na prática, etc.). Podem ser apresentados dados de apoio para melhor justificar as especificações técnicas. O teor real de componentes especialmente indesejados atendendo às suas propriedades toxicológicas, ecotoxicológicas ou ambientais deve ser determinado e indicado, mesmo que presente em quantidades inferiores a 1 g/kg. Os dados comunicados devem incluir o resultado da análise de amostras individuais e um resumo desses dados, que mostrem os teores mínimo, máximo e médio de cada componente relevante.

Quando a substância ativa seja produzida em fábricas diferentes, as informações previstas no primeiro parágrafo devem ser fornecidas separadamente para cada uma delas.

Além disso, quando pertinente, devem ser analisadas amostras da substância ativa produzida à escala laboratorial ou em sistemas de produção-piloto, se esse material for utilizado para a obtenção de dados toxicológicos ou ecotoxicológicos. Se estes dados não existirem, deve ser fornecida uma justificação.

▼B

Quando as informações fornecidas sejam respeitantes a um sistema de produção-piloto, as informações exigidas devem ser notificadas de novo quando os métodos e as técnicas de produção à escala industrial tiverem estabilizado. Sempre que disponíveis, os dados à escala industrial devem ser apresentados antes da aprovação nos termos do Regulamento (CE) n.º 1107/2009. Quando não existirem dados à escala de produção industrial, deve ser fornecida uma justificação.

SECÇÃO 2

Propriedades físicas e químicas da substância ativa

2.1. **Ponto de fusão e ponto de ebulição**

O ponto de fusão ou, quando adequado, de congelação ou de solidificação da substância ativa purificada deve ser determinado e comunicado. As determinações devem ser realizadas a uma temperatura igual ou inferior a 360 °C.

O ponto de ebulição da substância ativa purificada deve ser determinado e comunicado. As determinações devem ser realizadas a uma temperatura igual ou inferior a 360 °C.

Quando não seja possível a determinação do ponto de fusão ou ponto de ebulição devido à decomposição ou sublimação, deve indicar-se a temperatura de decomposição ou de sublimação.

2.2. **Pressão do vapor, volatilidade**

Deve ser comunicada a pressão do vapor da substância ativa purificada a 20 °C ou 25 °C. Quando a pressão do vapor for inferior a 10^{-5} Pa a 20 °C, a pressão do vapor a 20 °C ou a 25 °C deve ser estimada através de uma curva de pressão de vapor com medições a temperaturas mais elevadas.

No caso das substâncias ativas sólidas ou líquidas, a volatilidade (constante da lei de Henry) da substância ativa purificada deve ser determinada ou calculada a partir da sua solubilidade em água e da pressão de vapor e o valor (em Pa × m^3 × mol^{-1}) deve ser comunicado.

2.3. **Aspeto (estado físico, cor)**

Deve ser feita uma descrição da cor, se for caso disso, e do estado físico quer da substância ativa técnica quer da substância ativa purificada.

2.4. **Espetros (UV/VIS, IR, RMN, MS), extinção molar em comprimentos de onda relevantes, pureza ótica**

Devem ser obtidos e indicados os seguintes espetros, incluindo uma tabela dos sinais característicos necessários à sua interpretação: ultravioleta/visível (UV/VIS), infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) e espetrometria de massa (EM) da substância ativa purificada.

Deve ser determinada e comunicada a extinção molar nos comprimentos de onda relevantes ((ε em L × mol^{-1} × cm^{-1}). Os comprimentos de onda relevantes incluem todos os máximos no espetro de absorção UV/visível, bem como os comprimentos de onda compreendidos na gama de 290--700 nm.

No caso das substâncias ativas constituídas por isómeros óticos resolvidos, deve ser medida e indicada a pureza ótica.

Devem ser determinados e comunicados os espetros de absorção no UV/ /VIS, e os espetros IV, RMN e EM, quando tal seja necessário para a identificação das impurezas consideradas como tendo significância do ponto de vista toxicológico, ecotoxicológico ou ambiental.

▼B

2.5. **Solubilidade na água**

A solubilidade em água das substâncias ativas purificadas, à pressão atmosférica, deve ser determinada e indicada a 20 °C. Estas determinações da hidrossolubilidade devem ser feitas em meio neutro (isto é, em água destilada em equilíbrio com o dióxido de carbono atmosférico). Se o valor de pKa for entre 2 e 12, a hidrossolubilidade deve ser determinada em meio ácido (pH compreendido entre 4 e 5) e alcalino (pH compreendido entre 9 e 10). Quando a estabilidade da substância ativa no meio aquoso for tal que a solubilidade na água não possa ser determinada, deve ser fornecida uma justificação com base em dados de ensaio.

2.6. **Solubilidade em solventes orgânicos**

A solubilidade das substâncias ativas técnicas, ou da substância ativa purificada, nos solventes orgânicos a seguir referidos, de 15 a 25 °C, deve ser determinada e indicada caso seja inferior a 250 g/L; a temperatura aplicada deve ser especificada. Os resultados devem ser comunicados em g/L.

a) hidrocarbonetos alifáticos: de preferência heptano;

b) hidrocarbonetos aromáticos: de preferência tolueno;

c) hidrocarbonetos halogenados: de preferência diclorometano;

d) álcool: de preferência metanol ou álcool isopropílico;

e) cetona: de preferência acetona;

f) éster: de preferência acetato de etilo.

Se um ou mais destes solventes forem inadequados para uma determinada substância ativa (por exemplo, reagirem com material de ensaio) podem ser utilizados solventes alternativos. Nesses casos, as escolhas dos solventes devem ser justificadas em termos da sua estrutura e polaridade.

2.7. **Coeficiente de partição n-octanol/água**

O coeficiente de partição n-octanol/água (Kow ou log P_{oa}) da substância ativa purificada e de todos os componentes abrangidos na definição de resíduo para efeitos de avaliação do risco devem ser determinados e comunicados a 20 °C ou 25 °C. O efeito de pH (4 a 10) deve ser investigado quando a substância tiver um valor pKa compreendido entre 2 e 12.

2.8 **Dissociação em água**

Quando ocorra a dissociação em água, as constantes de dissociação (valores pKa) da substância ativa purificada devem ser determinadas e comunicadas a 20 °C. Deve indicar-se a identidade dos produtos de dissociação formados, com base em considerações teóricas. No caso de a substância ativa ser um sal, deve ser indicado o valor pKa da forma não dissociada da substância ativa.

2.9. **Inflamabilidade e auto-inflamabilidade.**

Devem ser determinadas e comunicadas a inflamabilidade e a auto-inflamabilidade das substâncias ativas técnicas. Pode ser aceite uma estimativa teórica com base na estrutura, caso esta cumpra os critérios definidos no apêndice 6 do documento «Recomendações relativas ao transporte de mercadorias perigosas. Manual de ensaios e critérios», da ONU ([1]). Em casos devidamente justificados podem ser utilizados dados relativos à substância ativa purificada.

([1]) Nações Unidas, Nova Iorque e Genebra (2009), Publicação ISBN 978-92-1-139135-0.

▼B

2.10. **Ponto de inflamabilidade**

Deve ser determinado e comunicado o ponto de inflamabilidade das substâncias ativas técnicas com um ponto de fusão inferior a 40 °C. Em casos devidamente justificados podem ser utilizados dados relativos à substância ativa purificada.

2.11. **Propriedades explosivas**

Devem ser determinadas e comunicadas as propriedades explosivas das substâncias ativas técnicas. Pode ser aceite uma estimativa teórica com base na estrutura, caso esta cumpra os critérios definidos no apêndice 6 do documento «Recomendações relativas ao transporte de mercadorias perigosas. Manual de ensaios e critérios», da ONU. Em casos devidamente justificados podem ser utilizados dados relativos à substância ativa purificada.

2.12. **Tensão superficial**

A tensão superficial da substância ativa purificada deve ser determinada e comunicada.

2.13. **Propriedades oxidantes**

Devem ser determinadas e comunicadas as propriedades oxidantes das substâncias ativas técnicas. Pode ser aceite uma estimativa teórica com base na estrutura, caso esta cumpra os critérios definidos no apêndice 6 do documento «Recomendações relativas ao transporte de mercadorias perigosas. Manual de ensaios e critérios», da ONU. Em casos devidamente justificados podem ser utilizados dados relativos à substância ativa purificada.

2.14. **Outros estudos**

Os estudos complementares necessários para a classificação da substância ativa em função do perigo devem ser realizados em conformidade com o Regulamento (CE) n.º 1272/2008.

SECÇÃO 3

Informações adicionais sobre a substância ativa

3.1. **Utilização da substância ativa**

As informações fornecidas devem descrever as utilizações, ou utilizações propostas, dos produtos fitofarmacêuticos que contêm a substância ativa e a dose e o modo de uso ou de uso proposto.

3.2. **Função**

Deve especificar-se a função de entre as seguintes:

a) acaricida;

b) bactericida;

c) fungicida;

d) herbicida;

e) inseticida;

f) moluscicida;

g) nematodicida;

h) regulador de crescimento;

i) repulsivo;

▼B

j) rodenticida;

k) semioquímico;

l) talpicida;

m) viricida;

n) outra (a especificar pelo requerente).

3.3. **Efeitos sobre os organismos nocivos**

Deve ser indicada a natureza dos efeitos nos organismos nocivos:

a) ação por contacto;

b) ação por ingestão;

c) ação por inalação;

d) ação fungitóxica;

e) ação fungistática;

f) dessecante;

g) inibidor da reprodução;

h) outra (a especificar pelo requerente).

Quando necessário, deve referir-se se a substância ativa é ou não translocada nos vegetais e, quando necessário, se essa translocação é apoplástica ou simplástica, ou ambas.

3.4. **Domínio de utilização previsto**

Os domínios de utilização, existentes e propostos, dos produtos fitofarmacêuticos que contêm a substância ativa devem ser especificados dentre os seguintes:

a) utilização de campo, como a agricultura, a horticultura, a silvicultura e a viticultura;

b) culturas protegidas;

c) espaços de lazer;

d) controlo de infestantes em zonas não cultivadas;

e) jardins e hortas familiares;

f) plantas de interior;

g) armazenagem de produtos vegetais;

h) outro (a especificar pelo requerente).

3.5. **Organismos prejudiciais controlados e culturas ou produtos protegidos ou tratados**

Devem ser fornecidos pormenores sobre a utilização existente ou proposta em termos de culturas, grupos de culturas, vegetais ou produtos vegetais tratados e, quando pertinente, protegidos.

Se for caso disso, devem ser fornecidas informações sobre os organismos prejudiciais contra os quais é obtida a proteção.

Quando pertinente, devem ser comunicados os efeitos conseguidos, por exemplo, efeito antiabrolhante, atraso da maturação, redução do comprimento dos caules, melhoria da fertilização.

▼B

3.6. **Modo de ação**

Na medida em que tal esteja esclarecido, deve ser fornecida uma declaração sobre o modo de ação da substância ativa em termos, quando pertinente, dos mecanismos bioquímicos e fisiológicos e processos bioquímicos envolvidos. Quando disponíveis, devem indicar-se os resultados de ensaios experimentais relevantes.

Quando se saiba que para exercer o efeito pretendido a substância ativa deve ser convertida num metabolito ou produto de degradação após a aplicação ou utilização dos produtos fitofarmacêuticos que a contêm, devem ser fornecidas as informações seguintes relativas ao metabolito ativo ou produto de degradação ativo:

a) nome químico de acordo com a nomenclatura IUPAC e CA;

b) nome vulgar ISO ou nome vulgar proposto;

c) número CAS, número CE;

d) fórmula molecular e de estrutura; e

e) massa molar.

Sempre que relevante, as informações referidas nas alíneas a) a e) devem ser cruzadas com as informações fornecidas nas secções 5 a 8 e basear-se nas mesmas.

As informações disponíveis sobre a formação de metabolitos ativos e de produtos da degradação ativos devem ser fornecidas, incluindo o seguinte:

— processos, mecanismos e reações envolvidos,

— dados cinéticos e outros dados relativos à velocidade de conversão e, quando conhecido, o passo limitante da velocidade,

— fatores ambientais e outros que afetam a velocidade e a extensão da conversão.

3.7. **Informações sobre a ocorrência ou possível ocorrência de desenvolvimento de resistência e estratégias de gestão adequadas**

Deve ser fornecida, quando disponível, informação sobre a ocorrência ou eventual ocorrência do desenvolvimento de resistência ou de resistência cruzada.

Devem ser previstas estratégias adequadas de gestão do risco para áreas nacionais/regionais.

3.8. **Métodos e precauções relativos ao manuseamento, armazenagem, transporte ou incêndio**

Em relação a todas as substâncias ativas, deve ser fornecida a ficha de dados de segurança em conformidade com o artigo 31.º do Regulamento (CE) n.º 1907/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho ([1]).

Os estudos, dados e informações apresentados, juntamente com outros estudos, dados e informações relevantes, devem especificar e justificar os métodos e precauções a seguir em caso de incêndio. Devem ser previstos os eventuais produtos de combustão em caso de incêndio, com base na estrutura química e nas propriedades físicas e químicas da substância ativa.

([1]) JO L 396 de 30.12.2006, p. 1.

▼B

3.9. **Processos de destruição ou descontaminação**

Em muitos casos, o único meio, ou o meio preferível, de eliminar com segurança as substâncias ativas, materiais contaminados ou embalagens contaminadas consiste na incineração controlada num incinerador autorizado. Essa incineração deve ser efetuada em conformidade com os critérios definidos na Diretiva 94/67/CE ([1]) do Conselho.

Devem ser descritos em pormenor outros métodos de eliminação das substâncias ativas, de embalagens e materiais contaminados, quando propostos. Devem ser fornecidos dados relativos a esses métodos, para determinar a sua eficácia e segurança.

3.10. **Medidas de emergência em caso de acidente**

Devem ser indicados processos de descontaminação da água e do solo em caso de acidente.

Os estudos, dados e informações apresentados, juntamente com outros estudos, dados e informações relevantes, devem demonstrar a adequabilidade das medidas propostas para utilização em situações de emergência.

SECÇÃO 4

Métodos de análise

Introdução

O disposto na presente secção abrange os métodos analíticos utilizados para a obtenção de dados pré-aprovação e necessários para efeitos de controlo e monitorização pós-aprovação.

Devem ser apresentadas descrições dos métodos, devendo ser incluídas indicações pormenorizadas relativas ao equipamento, materiais e condições utilizados.

Quando solicitadas, devem ser fornecidas as seguintes informações:

a) padrões analíticos da substância ativa purificada;

b) amostras da substância ativa técnica,

c) padrões analíticos de metabolitos relevantes e de todos os outros componentes incluídos em todas as definições de monitorização de resíduos;

d) amostras de substâncias de referência para as impurezas relevantes.

Sempre que possível, os padrões referidos nas alíneas a) e c) devem ser disponibilizados comercialmente e, a pedido, a empresa de distribuição deve ser indicada.

4.1. **Métodos utilizados para a criação dos dados pré-aprovação**

4.1.1. *Métodos de análise da substância ativa técnica*

Os métodos devem ser fornecidos, com uma descrição pormenorizada, para determinar:

a) a substância ativa pura na substância ativa técnica e especificada no processo apresentado em apoio da aprovação nos termos do Regulamento (CE) n.º 1107/2009;

([1]) JO L 365 de 31.12.1994, p. 34.

▼B

b) impurezas e aditivos significativos e pertinentes (tais como estabilizantes) na substância ativa técnica.

Deve ser avaliada e comunicada a aplicabilidade dos métodos CIPAC existentes. No caso de utilização de um método CIPAC, não é necessário apresentar mais dados de validação mas, sempre que disponíveis, devem ser fornecidos cromatogramas exemplificativos.

Deve ser determinada e comunicada a especificidade dos métodos. Além disso, deve também ser determinado o grau de interferência por outras substâncias presentes na substância ativa técnica (por exemplo, impurezas ou aditivos).

Deve ser determinada e comunicada a linearidade dos métodos. A gama de calibração deve exceder (em pelo menos 20%) o teor nominal mais elevado e mais baixo do analito nas soluções analíticas relevantes. Devem ser efetuadas determinações em duplicado, em três ou mais concentrações, ou determinações simples, em cinco ou mais concentrações. Deve ser comunicada a equação da linha de calibração e o coeficiente de correlação e deve ser apresentada uma curva de calibração típica. Nos casos em que se utilize uma resposta não linear, o requerente deve justificar este facto.

Deve ser determinada e comunicada a precisão (repetibilidade) dos métodos. Devem efetuar-se, no mínimo, cinco determinações em amostras idênticas e comunicar-se o desvio médio, o desvio padrão relativo e o número de determinações.

Para a determinação do teor de substância ativa, deve efetuar-se uma avaliação da exatidão do método através de uma avaliação da interferência e da exatidão.

No que se refere aos aditivos e impurezas significativas e pertinentes:

— a exatidão dos métodos deve ser determinada em pelo menos duas amostras representativas nos níveis adequados aos dados sobre o lote e à especificação do material. Deve ser comunicado o desvio médio e o desvio padrão relativo das recuperações,

— não é necessária a determinação experimental do limite de quantificação (LOQ). No entanto, deve demonstrar-se que os métodos são suficientemente precisos para analisar impurezas significativas a níveis adequados à especificação do material e impurezas pertinentes numa concentração equivalente a, no mínimo, 20 % inferior ao limite de especificação.

4.1.2. *Métodos de avaliação do risco*

Os métodos devem ser apresentados com uma descrição completa para a determinação dos resíduos sem marcação isotópica em todas as áreas do processo, tal como definido em pormenor nos seguintes pontos:

a) no solo, na água, no sedimento, no ar e em quaisquer matrizes adicionais utilizadas para documentar estudos sobre o destino no ambiente;

b) no solo, na água, e em quaisquer matrizes adicionais utilizadas para apoiar estudos de eficácia;

c) em alimentos para animais, fluidos e tecidos corporais, no ar e em quaisquer matrizes adicionais utilizadas para documentar estudos toxicológicos;

▼B

d) em fluidos corporais, no ar e em quaisquer matrizes adicionais utilizadas para documentar sobre a exposição dos operadores, trabalhadores, residentes e pessoas estranhas ao tratamento;

e) no interior ou à superfície de vegetais, produtos vegetais, produtos alimentares transformados, géneros alimentícios de origem vegetal e animal, alimentos para animais e em quaisquer matrizes adicionais utilizadas para documentar estudos sobre resíduos;

f) no solo, na água, no sedimento, em alimentos para animais e em quaisquer matrizes adicionais utilizadas para documentar estudos ecotoxicológicos;

g) em água, soluções-tampão, solventes orgânicos e quaisquer matrizes adicionais utilizadas nos ensaios relativos às propriedades físicas e químicas.

Deve ser determinada e comunicada a especificidade dos métodos. Se adequado, devem ser apresentados métodos de confirmação validados.

A linearidade, a recuperação e a precisão (repetibilidade) dos métodos devem ser determinadas e comunicadas.

Devem ser produzidos dados ao nível do LOQ e dos níveis prováveis de resíduos ou de dez vezes o LOQ. Se adequado, deve ser determinado e comunicado o LOQ para cada analito.

4.2. **Métodos de controlo e monitorização pós-aprovação**

Os métodos devem ser fornecidos, com uma descrição pormenorizada, para:

a) determinar todos os componentes incluídos na definição de monitorização de resíduos apresentada em conformidade com o disposto no ponto 6.7.1, a fim de permitir aos Estados-Membros determinar a conformidade com os limites máximos de resíduos (LMR); devem abranger resíduos no interior e à superfície de géneros alimentícios e alimentos para animais de origem vegetal e animal;

b) determinar todos os componentes incluídos para fins de monitorização nas definições de resíduos para o solo e a água apresentadas em conformidade com o disposto no ponto 7.4.2;

c) a análise no ar da substância ativa e produtos de degradação pertinentes formados durante ou após a aplicação, exceto se o requerente demonstrar que a exposição dos operadores, trabalhadores, residentes ou pessoas estranhas ao tratamento for negligenciável;

d) a análise nos fluidos e tecidos corporais para deteção das substâncias ativas e dos metabolitos pertinentes.

Na medida do possível, esses métodos devem utilizar a abordagem mais simples, ser o menos dispendiosos possível e utilizar equipamento correntemente disponível.

Deve ser determinada e comunicada a especificidade dos métodos, que deve permitir a determinação de todos os componentes incluídos na definição de monitorização de resíduos. Se adequado, devem ser apresentados métodos de confirmação validados.

A linearidade, a recuperação e a precisão (repetibilidade) dos métodos devem ser determinadas e comunicadas.

▼B

Devem ser produzidos dados ao nível do LOQ e dos níveis prováveis de resíduos ou de dez vezes o LOQ. Deve determinar-se e comunicar-se o LOQ para cada componente incluído na definição de monitorização de resíduos.

Para resíduos no interior ou à superfície de géneros alimentícios e de alimentos para animais de origem vegetal e animal e para resíduos na água potável, a reprodutibilidade do método deve ser determinada através de uma validação laboratorial independente (LIV) e comunicada.

SECÇÃO 5

Estudos toxicológicos e de metabolismo

Introdução

1. Deve abordar-se a pertinência da obtenção de dados toxicológicos em modelos animais com perfis metabólicos dissemelhantes aos dos humanos, caso essa informação metabólica esteja disponível, devendo ser tomada em consideração para a conceção do estudo e a avaliação do risco.

2. Devem ser comunicados todos os efeitos potencialmente adversos constatados durante as investigações toxicológicas (incluindo efeitos em órgãos/sistemas, tais como os sistemas imunitário, nervoso e endócrino). Podem ser necessários estudos adicionais para investigar os mecanismos subjacentes aos efeitos que podem ser críticos para a identificação do perigo ou para a avaliação do risco.

   Devem ser comunicados todos os dados biológicos disponíveis e as informações relevantes para a avaliação do perfil toxicológico da substância ativa de ensaio, incluindo os modelos.

3. Devem ser fornecidos com caráter de rotina e dados relativos ao histórico do controlo, sempre que disponíveis. Os dados apresentados devem corresponder a parâmetros que podem representar efeitos adversos críticos e devem ser específicos à estirpe e provenientes do laboratório que efetuou o estudo de indexação. Devem abranger um período de cinco anos, centrando-se o mais perto possível da data do estudo de indexação.

4. Ao preparar um plano de estudo, deve ter-se em conta os dados disponíveis sobre a substância de ensaio, tais como as suas propriedades físico-químicas (como a volatilidade), a pureza, a reatividade (como a taxa de hidrólise, eletrofilicidade) e as relações estrutura-atividade de análogos químicos.

5. Em todos os estudos deve ser indicada a dose real obtida, expressa em mg/kg de peso corporal ou noutras unidades convenientes (tais como mg/L para a inalação, mg/cm^2 para a via cutânea).

6. Os métodos analíticos a utilizar nos estudos de toxicidade devem ser específicos à entidade a ser medida e devem ser adequadamente validados. O LQ deve ser adequado para a medição da amplitude de concentrações cuja ocorrência se prevê na obtenção dos dados toxicocinéticos.

7. Sempre que, em resultado do metabolismo ou de outros processos verificados no interior ou à superfície dos vegetais tratados, nos animais de criação, no solo, nas águas subterrâneas, no ar ambiente ou em resultado da transformação dos produtos tratados, o resíduo terminal ao qual será exposto o ser humano contenha uma substância diferente da substância ativa e que não esteja identificada como um metabolito significativo nos mamíferos, devem ser efetuados, sempre que tecnicamente possível, estudos de toxicidade relativos a essa substância, exceto se for possível demonstrar que a exposição do ser humano a essa substância não constitui um risco significativo para a saúde.

▼B

Os estudos toxicocinéticos e de metabolismo relativos aos metabolitos e produtos de degradação só devem ser exigidos se não for possível avaliar a toxicidade do metabolito através dos resultados já disponíveis, respeitantes à substância ativa.

8. Se possível, deve ser sempre utilizada a via oral. Quando a exposição do ser humano se verifique principalmente através da fase gasosa, pode ser mais conveniente realizar alguns dos estudos com base na inalação.

9. Para a seleção da dose, devem ser considerados os dados toxicocinéticos como a saturação da absorção medida através da disponibilidade sistémica da substância e/ou dos metabolitos.

5.1. **Estudos relativos à absorção, distribuição, metabolismo e excreção em mamíferos**

As informações sobre a concentração da substância ativa e metabolitos relevantes no sangue e nos tecidos, por exemplo quando a concentração plásmica máxima for atingida (T_{max}), devem ser obtidas a partir de estudos de curto e longo prazo em espécies relevantes, no sentido de potenciar o valor dos dados toxicológicos obtidos em termos de compreensão dos estudos de toxicidade.

O objetivo principal dos dados toxicocinéticos é descrever a exposição sistémica atingida em animais e a sua relação com as doses e a evolução temporal dos estudos de toxicidade.

Outros objetivos:

a) estabelecer a relação entre a exposição atingida nos estudos de toxicidade e as constatações toxicológicas e contribuir para a avaliação da relevância destas constatações para a saúde humana, com especial atenção para os grupos vulneráveis;

b) apoiar a conceção de um estudo de toxicidade (escolha da espécie, protocolo de tratamento, seleção das doses) no que respeita à cinética e ao metabolismo;

c) fornecer informações que, relativamente às constatações dos estudos de toxicidade, contribuam para a conceção de estudos de toxicidade suplementares, tal como assinalado no ponto 5.8.2;

d) comparar o metabolismo dos ratos com o metabolismo dos animais de criação, tal como assinalado no ponto 6.2.4.

5.1.1. *Absorção, distribuição, metabolismo e excreção após exposição por via oral*

Alguns dados limitados a uma espécie de análise *in vivo* (normalmente, o rato) podem ser suficientes em termos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção após exposição por via oral. Estes dados podem dar indicações úteis para a conceção e interpretação de ensaios de toxicidade posteriores. No entanto, é necessário não esquecer que a informação relativa a diferenças entre espécies é fundamental aquando da extrapolação para o homem de dados obtidos com animais e as informações sobre o metabolismo após administração por outras vias podem ser úteis para as avaliações do risco para o ser humano.

É impossível especificar pormenorizadamente os dados a exigir em todos os domínios, já que as necessidades exatas dependerão dos resultados obtidos para cada substância ensaiada.

Os estudos devem fornecer informações suficientes sobre a cinética da substância ativa e seus metabolitos para as espécies pertinente após ter sido exposta às seguintes condições:

▼B

a) uma dose oral única (doses baixas e altas);

b) uma dose administrada por intravenosa de preferência ou, se disponível, uma dose oral única com avaliação da excreção biliar (dose baixa); e

c) uma dose repetida.

Um parâmetro essencial é a biodisponibilidade sistémica (F), obtida por comparação da área sob a curva (ASC) após administração da dose por via oral ou intravenosa.

Sempre que não seja viável a administração intravenosa deve ser fornecida uma justificação.

A conceção dos estudos cinéticos exigidos deve incluir:

a) uma avaliação da taxa e da extensão da absorção oral, incluindo concentração plásmica máxima (C_{max}), ASC, T_{max} e outros parâmetros adequados, tais como a biodisponibilidade;

b) o potencial de bioacumulação;

c) as semividas no plasma;

d) a distribuição nos principais órgãos e tecidos;

e) informações relativas à distribuição nas células sanguíneas;

f) a estrutura química e a quantificação dos metabolitos nos fluidos e tecidos biológicos;

g) as diferentes vias metabólicas;

h) a via e a evolução temporal da excreção da substância ativa e dos metabolitos;

i) estudos sobre uma eventual circulação entero-hepática e a respetiva extensão.

Devem ser efetuados estudos metabólicos comparativos *in vitro* nas espécies animais a utilizar nos estudos de base e em materiais humanos (microssomas ou sistemas celulares intactos) para determinar a relevância dos dados toxicológicos animais e para orientar a interpretação das constatações e melhor definir a estratégia de ensaio.

Deve ser apresentada uma explicação, ou realizados novos ensaios, sempre que um metabolito seja detetado *in vitro* em material humano e não na espécie animal ensaiada.

5.1.2. *Absorção, distribuição, metabolismo e excreção após exposição por outras vias*

Devem ser apresentados dados sobre absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) após exposição por via cutânea, sempre que a toxicidade após este tipo de exposição levante preocupações em comparação com a toxicidade decorrente da exposição por via oral. Antes de investigar a ADME *in vivo* após exposição cutânea, deve realizar-se um estudo de penetração cutânea *in vitro* para avaliar a magnitude e a taxa prováveis de biodisponibilidade cutânea.

A absorção, distribuição, metabolismo e excreção após exposição por via cutânea devem ser consideradas com base nas informações mencionadas supra, exceto se a substância ativa provocar irritação cutânea que comprometa o resultado do estudo.

▼B

A estimativa da absorção cutânea a partir dos dados gerados por estes estudos sobre a substância ativa deve ser avaliada criticamente para determinar a sua pertinência para o ser humano. A medição da absorção cutânea do produto fitofarmacêutico é abordada especificamente na parte A, ponto 7.3, do anexo do Regulamento (UE) n.º 284/2013.

Para as substâncias ativas voláteis (pressão de vapor > 10^{-2} Pa), pode ser útil para as avaliações do risco para o ser humano um estudo de absorção, distribuição, metabolismo e excreção após exposição por inalação.

5.2. **Toxicidade aguda**

Os estudos, dados e informações a fornecer e a avaliar devem ser suficientes para permitir a identificação dos efeitos decorrentes de uma exposição única à substância ativa, e para determinar ou indicar, em particular:

a) a toxicidade da substância ativa;

b) a evolução temporal e as características dos efeitos, incluindo dados pormenorizados sobre as alterações comportamentais, sinais clínicos, sempre que aparentes, e eventuais observações anatomopatológicas do exame *post mortem*;

c) a eventual necessidade de considerar a definição de doses agudas de referência (por exemplo, DAR, AOELa [1]);

d) sempre que possível, mecanismo da ação tóxica;

e) o perigo relativo associado às diferentes vias de exposição.

Embora deva ser dada especial atenção à estimativa dos níveis de toxicidade envolvidos, a informação obtida deve também permitir a classificação da substância ativa nos termos do Regulamento (CE) n.º 1272/2008. As informações recolhidas durante os ensaios de toxicidade aguda têm interesse particular para a avaliação dos perigos prováveis em caso de acidente.

5.2.1. *Via oral*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A toxicidade aguda por via oral da substância ativa deve ser sempre comunicada.

5.2.2. *Via cutânea*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A toxicidade cutânea aguda da substância ativa deve ser comunicada, exceto se o contrário se puder justificar cientificamente (por exemplo, quando a DL_{50} [2] for superior a 2 000 mg/kg). Devem ser investigados os efeitos tópicos e sistémicos.

Devem ser utilizadas as constatações de irritação cutânea grave (eritema de grau 4 ou edema) no estudo cutâneo em vez de se efetuar um estudo de irritação específico.

5.2.3. *Via inalatória*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A toxicidade aguda por inalação da substância ativa deve ser comunicada nos seguintes casos:

[1] AOELa, abreviatura de «AOEL agudo».

[2] DL_{50}, abreviatura de «Dose Letal, 50 %», ou seja a dose necessária para eliminar metade dos membros de uma população após uma duração especificada do ensaio.

▼B

— a substância ativa possui uma pressão de vapor > 1×10^{-2} Pa, a 20°C,

— a substância ativa é um pó que contem uma percentagem significativa de partículas de diâmetro < 50 μm (> 1 % em peso),

— a substância ativa encontra-se em produtos sob a forma de pó ou que são aplicados por pulverização.

Deve utilizar-se a exposição apenas da cabeça/ nariz, exceto quando se puder justificar a exposição do corpo inteiro.

5.2.4. *Irritação cutânea*

Os resultados do estudo devem fornecer informações sobre o potencial de irritação cutânea da substância ativa, incluindo a reversibilidade potencial dos efeitos observados, sempre que pertinente.

Antes de realizar ensaios *in vivo* para determinar o grau de corrosão/irritação da substância ativa, deve efetuar-se uma análise de importância das provas dos dados existentes pertinentes. No caso de não se encontrarem disponíveis dados suficientes, estes podem ser obtidos através da aplicação de ensaios sequenciais.

A estratégia de ensaio deve seguir uma abordagem por fases:

1) a avaliação da corrosividade cutânea com a utilização de um método de ensaio *in vitro* validado;

2) a avaliação da irritação cutânea com a utilização de um método de ensaio *in vitro* validado (tais como modelos de pele humana reconstituída);

3) um estudo inicial de irritação cutânea *in vivo* com recurso a um animal e sempre que não se verifiquem efeitos adversos;

4) ensaio de confirmação usando um ou dois animais adicionais.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

O estudo de irritação cutânea da substância ativa deve ser sempre apresentado. Quando disponível, deve ser utilizado um estudo de toxicidade cutânea que revele não produzir irritação cutânea na dose-limite de ensaio de 2 000 mg/kg de peso corporal, para prescindir da necessidade de quaisquer estudos de irritação cutânea.

5.2.5. *Irritação ocular*

Os resultados do estudo devem determinar o potencial de irritação ocular da substância ativa, incluindo a reversibilidade potencial dos efeitos observados, sempre que pertinente.

Antes de realizar ensaios *in vivo* para determinar o grau de corrosão/irritação ocular da substância ativa, deve efetuar-se uma análise de importância das provas dos dados existentes pertinentes. No caso de os dados disponíveis serem considerados insuficientes, estes podem ser obtidos através da aplicação de ensaios sequenciais.

A estratégia de ensaio deve seguir uma abordagem por fases:

1) a utilização de um ensaio de irritação/corrosão cutânea *in vitro* para prever a irritação/corrosão ocular;

2) a realização de um estudo *in vitro* de irritação ocular validado ou aceite para identificar irritantes/corrosivos oculares graves [tais como o ensaio *Bovine Corneal Opacity and Permeability* (BCOP), o ensaio

▼B

Isolated Chicken Eye (ICE), o ensaio *Isolated Rabbit Eye* (IRE), o ensaio *Hen's Egg Test - Chorio-Allantoic Membrane* (HET-CAM)] e, sempre que se obtenham resultados negativos, a avaliação da irritação ocular através de um método de ensaio *in vitro* para identificação de não irritantes ou irritantes, e sempre que não disponível;

3) um estudo inicial de irritação ocular *in vivo* com recurso a um animal e sempre que não se verifiquem efeitos adversos;

4) ensaio de confirmação usando um ou dois animais adicionais.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

O potencial de irritação ocular da substância ativa deve ser sempre determinado, salvo nos casos em que, nos termos dos critérios do método de ensaio, sejam previsíveis efeitos graves para os olhos.

5.2.6. *Sensibilização cutânea*

O estudo deve fornecer informações suficientes para avaliar a capacidade da substância ativa de provocar reações de sensibilização cutânea.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Este estudo deve ser sempre realizado, salvo nos casos em que a substância ativa seja um sensibilizante conhecido. Deve ser utilizado o ensaio dos gânglios linfáticos locais (LLNA) incluindo, sempre que adequado, a variante reduzida do ensaio. No caso de não se poder realizar o LLNA, deve ser apresentada uma justificação e deve realizar-se o ensaio de maximização na cobaia (GPMT). Sempre que esteja disponível um ensaio em cobaia (de maximização ou de Buehler) que cumpra as diretrizes da OCDE e que apresente resultados claros, não se deve proceder a outros ensaios por motivos de bem-estar animal.

Visto que uma substância ativa identificada como um sensibilizante cutâneo pode potencialmente induzir uma reação de hipersensibilidade, a potencial sensibilização respiratória deve ser tida em conta quando estiverem disponíveis ensaios adequados ou quando existirem indicações de efeitos de sensibilização respiratória.

5.2.7. *Fototoxicidade*

O estudo deve fornecer informações sobre o potencial de determinadas substâncias ativas para induzir a citotoxicidade em combinação com a luz, por exemplo, substância ativas que são fototóxicas *in vivo* após exposição sistémica e distribuição até chegar à pele, bem como substâncias ativas que atuam como fotoirritantes na sequência da sua aplicação na pele. Um resultado positivo deve ser tido em conta ao considerar a exposição potencial do ser humano.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

O estudo *in vitro* deve ser exigido sempre que a substância ativa absorva radiação eletromagnética no intervalo 290-700 nm e seja suscetível de atingir os olhos ou zonas da pele expostas à luz, por contacto direto ou por distribuição sistémica.

Se o coeficiente de extinção/absorção molar no ultravioleta/visível da substância ativa for inferior a 10 $L \times mol^{-1} \times cm^{-1}$, não é necessário efetuar ensaios de toxicidade.

5.3. **Toxicidade a curto prazo**

Os estudos de toxicidade a curto prazo devem ser concebidos de forma a fornecer informações quanto à quantidade de substância ativa que pode ser tolerada sem efeitos adversos, nas condições do estudo, e a elucidar os perigos para a saúde que se verificam a doses mais altas. Estes estudos fornecem informações úteis sobre os riscos para as pessoas que manipulam e utilizam produtos fitofarmacêuticos que contêm a substância ativa, entre outros eventuais grupos expostos. Os estudos a curto prazo proporcionam,

▼B

nomeadamente, indicações essenciais quanto a eventuais ações repetidas da substância ativa e quanto aos riscos para os seres humanos que possam estar expostos. Além disso, as informações fornecidas pelos estudos a curto prazo são úteis para a conceção dos estudos de toxicidade crónica.

Os estudos, dados e informações a fornecer e analisar devem ser suficientes para permitir a identificação dos efeitos da exposição repetida à substância ativa e, em particular, determinar ou indicar:

a) a relação entre a dose e os efeitos adversos;

b) a toxicidade da substância ativa, incluindo, sempre que possível, o nível sem efeitos adversos observáveis (NSEAO);

c) se relevante, os órgãos-alvo (incluindo os sistemas imunitário, nervoso e endócrino);

d) a evolução temporal e as características dos efeitos adversos, com informações pormenorizadas quanto às alterações de comportamento e eventuais alterações patológicas observadas no exame *post mortem*;

e) efeitos adversos específicos e alterações patológicas produzidas;

f) se relevante, a persistência e irreversibilidade de determinados efeitos adversos observados após a interrupção da administração;

g) sempre que possível, mecanismo da ação tóxica;

h) o perigo relativo associado às diferentes vias de exposição;

i) parâmetros críticos relevantes em momentos adequados para a definição de valores de referência, sempre que necessário;

Os dados toxicocinéticos (ou seja, a concentração no sangue) devem ser incluídos nos estudos a curto prazo. Para evitar o aumento do uso de animais, os dados podem ser derivados de estudos para a determinação do intervalo de concentrações.

Se os sistemas imunitário, nervoso ou endócrino forem alvos específicos nos estudos a curto prazo em doses que não produzem uma toxicidade acentuada, devem ser realizados estudos complementares, incluindo ensaios funcionais (ver ponto 5.8.2).

5.3.1. *Estudo de toxicidade por via oral de 28 dias*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Quando disponíveis, devem comunicar-se os estudos de 28 dias.

5.3.2. *Estudo de toxicidade por via oral de 90 dias*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A toxicidade a curto prazo (90 dias) da substância ativa por via oral em roedores (normalmente, o rato - é necessário justificar a utilização de outra espécie de roedores) e em não roedores (estudo de toxicidade de 90 dias em cães), deve ser sempre comunicada.

No estudo de 90 dias devem ser cuidadosamente abordados os efeitos neurotóxicos e imunotóxicos potenciais, a genotoxicidade através da formação de micronúcleos e os efeitos potencialmente relacionados com alterações do sistema hormonal.

▼B

5.3.3. *Outras vias*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Para a avaliação do risco para o ser humano, devem-se considerar-se estudos cutâneos adicionais numa base caso a caso, exceto se a substância ativa for um irritante grave.

Para as substâncias ativas voláteis (pressão de vapor > 10^{-2} Pa), é necessário um parecer especializado (por exemplo, com base em dados cinéticos específicos para a via de exposição) para decidir se os estudos a curto prazo têm de ser realizados com exposição por inalação.

5.4. **Ensaio de genotoxicidade**

Os objetivos do ensaio de genotoxicidade são:

— calcular o potencial genotóxico,

— identificar substâncias cancerígenas genotóxicas numa fase inicial,

— elucidar o mecanismo de ação de algumas substâncias cancerígenas.

Devem ser utilizadas nos ensaios *in vitro* e *in vivo* as doses adequadas, dependendo das necessidades do ensaio. Deve ser adotada uma abordagem por fases, selecionando os ensaios mais avançados em função da interpretação dos resultados obtidos na etapa anterior.

A estrutura de uma molécula pode condicionar a aplicação de requisitos especiais para o ensaio em relação à fotomutagenicidade. Se o coeficiente de extinção/absorção molar no ultravioleta/visível da substância ativa e dos seus principais metabolitos for inferior a 1 000 L × mol^{-1} × cm^{-1}, não é necessário efetuar ensaios de fotomutagenicidade.

5.4.1. Estudos *in vitro*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser realizados os seguintes ensaios de mutagenicidade *in vitro*: ensaio bacteriano de mutação de genes, ensaio combinado de aberrações cromossómicas estruturais e numéricas em células de mamíferos e ensaio de mutação de genes em células de mamíferos.

Contudo, se se detetar mutação dos genes e clastogenicidade/aneuploidia num conjunto de ensaios constituído por ensaios de Ames e de micronúcleos *in vitro* (IVM), não é necessário realizar outros testes *in vitro*.

Se existirem indicações da formação de micronúcleos num ensaio de micronúcleos *in vitro*, devem realizar-se outros ensaios com técnicas de coloração adequadas para determinar a existência de uma resposta aneugénica ou clastogénica. Podem equacionar-se investigações suplementares da resposta aneugénica para determinar se existem provas suficientes para um mecanismo-limiar e uma concentração-limiar para a resposta aneugénica (especialmente para não disjunção).

As substâncias ativas que apresentam propriedades altamente bacteriostáticas, tal como demonstrado através de um ensaio de determinação do intervalo de concentrações, devem ser sujeitas a dois ensaios *in vitro* diferentes em células de mamíferos para deteção de mutação dos genes. A não execução do ensaio de Ames de ser justificada.

Para substâncias ativas que apresentam alertas estruturais que obtiveram resultados negativos no conjunto de ensaios-padrão, podem ser necessários ensaios complementares caso os ensaios-padrão não tiverem sido otimizados para aqueles alertas. A escolha de estudos adicionais ou de alterações ao plano de estudos depende da natureza química, da reatividade conhecida e dos dados relativos ao metabolismo na substância com alertas estruturais.

▼B

5.4.2. Estudos *in vivo* em células somáticas

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Se todos os resultados dos estudos *in vitro* forem negativos, deve realizar-se pelo menos um estudo *in vivo* com demonstração da exposição ao tecido a ensaiar (tal como, dados sobre toxicidade celular ou dados toxicocinéticos), exceto se forem gerados dados *in vivo* válidos sobre os micronúcleos num estudo de dose repetida e o ensaio *in vivo* dos micronúcleos for o ensaio adequado a realizar para dar resposta a este requisito em matéria de informações.

Um resultado negativo no primeiro ensaio *in vivo* em células somáticas fornece segurança suficiente para as substâncias ativas com resultados negativos nos três ensaios *in vitro*.

Para substâncias ativas para as quais se obtenha um resultado equívoco ou positivo em qualquer dos ensaios *in vitro*, importa considerar a natureza dos ensaios adicionais necessários numa base caso a caso, tendo em conta todas as informações relevantes que utilizam o mesmo parâmetro que no ensaio *in vitro*.

Se o ensaio *in vitro* de aberrações cromossómicas em mamíferos ou o ensaio de micronúcleos forem positivos para a clastogenicidade, deve realizar-se um ensaio *in vivo* de clastogenicidade com células somáticas (análise da metáfase em medula óssea de roedores ou ensaio de micronúcleos em roedores).

Se o ensaio *in vitro* de micronúcleos para deteção de aberrações cromossómicas numéricas em células de mamíferos for positivo ou se o ensaio *in vitro* dos cromossomas de mamíferos for positivo para as alterações numéricas dos cromossomas, deve realizar-se um ensaio *in vivo* de micronúcleos. Em caso de resultado positivo no ensaio *in vivo* de micronúcleos, devem utilizar-se técnicas de coloração adequadas, tais como a hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) para identificar uma resposta aneugénica e/ou clastogénica.

Quando qualquer dos dois ensaios de mutação de genes *in vitro* for positivo, deve efetuar-se um ensaio *in vivo* para investigar a indução da mutação de genes, tal como o ensaio de mutação de genes das células somáticas e germinativas de roedores transgénicos.

Ao realizar estudos *in vivo* de genotoxicidade, apenas devem ser utilizadas as vias e os métodos de exposição que sejam relevantes (tais como adição à alimentação, água, aplicação cutânea, inalação e gavagem). Devem existir dados convincentes de que o tecido pertinente será alcançado pela via de exposição e pelo método de aplicação selecionados. Deve justificar-se a utilização de outras técnicas de exposição (por exemplo, injeção intraperitonial ou subcutânea) suscetíveis de produzir uma cinética, uma distribuição ou um metabolismo anormais.

Deve considerar-se a realização de um ensaio *in vivo* como parte de um dos estudos de toxicidade a curto prazo descritos no ponto 5.3.

5.4.3. Estudos *in vivo* em células germinativas

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A necessidade de realizar estes testes deve ser avaliada caso a caso, tendo em consideração informações relativas à toxicocinética, utilização e exposição previsível.

Para a maior parte das substâncias ativas reconhecidas como agentes mutagénicos *in vivo* de células somáticas não é necessário qualquer outro ensaio de genotoxicidade, visto que serão considerados como agentes cancerígenos genotóxicos potenciais e agentes mutagénicos potenciais das células germinativas.

▼B

No entanto, em determinados casos específicos, podem realizar-se estudos das células germinativas para demonstrar se um agente mutagénico das células somáticas é ou não um agente mutagénico das células germinativas.

Ao selecionar-se o ensaio adequado deve ter-se em conta o tipo de mutação produzida em estudos anteriores, nomeadamente mutação génica, alterações cromossómicas numéricas ou estruturais.

Pode considerar-se também a realização de um estudo para deteção da presença de aductos de ADN em células gaméticas.

5.5. **Toxicidade e carcinogenicidade a longo prazo**

Os resultados dos estudos a longo prazo realizados e incluídos no relatório devem, juntamente com outros dados e informações relevantes sobre a substância ativa, ser suficientes para permitir a identificação dos efeitos decorrentes de uma exposição repetida à substância ativa e, nomeadamente, para:

— identificar os efeitos adversos resultantes da exposição a longo prazo à substância ativa,

— identificar os órgãos-alvo, caso existam,

— determinar a relação dose-resposta,

— estabelecer o NSEAO e, se necessário, outros pontos de referência adequados.

Da mesma forma, os estudos de carcinogenicidade devem, juntamente com outros dados e informações pertinentes sobre a substância ativa, ser suficientes para permitir a avaliação dos perigos para o ser humano em resultado de uma exposição repetida à substância ativa e, nomeadamente, para:

a) identificar os efeitos carcinogénicos resultantes da exposição a longo prazo à substância ativa;

b) determinar a especificidade, ao nível da espécie, do sexo e ao nível dos órgãos, dos tumores induzidos;

c) determinar a relação dose-resposta;

d) sempre que possível, identificar a dose máxima que não induz qualquer efeito carcinogénico;

e) sempre que possível, determinar o modo de ação e a relevância para o ser humano de qualquer resposta carcinogénica identificada.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A toxicidade e a carcinogenicidade a longo prazo devem ser determinados para todas as substâncias ativas. Caso, em circunstâncias excecionais, se alegue que os testes são desnecessários, essa alegação deve ser devidamente fundamentada.

Condições de ensaio

Deve ser efetuado um estudo (dois anos) da toxicidade oral a longo prazo e um estudo da carcinogenicidade a longo prazo da substância ativa em ratos; sempre que possível, estes estudos devem ser combinados.

▼B

Deve ser efetuado um segundo estudo de carcinogenicidade da substância ativa em ratinhos, exceto quando se possa justificar cientificamente que tal não é necessário. Nestes casos, podem ser utilizados modelos alternativos de carcinogenicidade validados cientificamente, em vez de um segundo estudo de carcinogenicidade.

Se os dados metabólicos comparativos indicarem que o rato ou o ratinho não são modelos adequados para a avaliação do risco de cancro nos humanos, pode considerar-se a utilização de uma espécie alternativa.

Devem ser apresentados dados experimentais, incluindo a elucidação do eventual modo de ação envolvido e a relevância para o ser humano, sempre que o modo de ação da carcinogenicidade seja considerado não genotóxico.

Caso sejam apresentados, os dados de controlos históricos devem referir-se a estudos contemporâneos realizados com a mesma espécie e estirpe, mantida em condições semelhantes no mesmo laboratório. Podem ser comunicados separadamente dados de controlos históricos adicionais obtidos noutros laboratórios, a título de informações complementares.

As informações a fornecer no que se refere aos dados de controlos históricos devem incluir:

a) a identificação da espécie e da estirpe, o nome do fornecedor e a identificação específica da colónia, caso o fornecedor tenha mais do que uma localização geográfica;

b) o nome do laboratório e datas de realização do estudo;

c) a descrição das condições gerais em que os animais foram mantidos, incluindo o tipo ou marca dos alimentos e, sempre que possível, a quantidade consumida;

d) a idade aproximada, em dias, e o peso dos animais de controlo no início do estudo e no momento do sacrifício ou morte;

e) a descrição do padrão de mortalidade observado no grupo de controlo, durante o estudo ou no seu termo, e outras observações pertinentes (por exemplo, doenças, infeções);

f) o nome do laboratório e dos investigadores encarregues do exame e responsáveis pela obtenção e interpretação dos dados patológicos do estudo;

g) uma declaração da natureza dos tumores que possam ter sido combinados para produzir dados de incidência.

Os dados de controlos históricos devem ser apresentados numa base estudo a estudo, fornecendo valores absolutos e ainda as percentagens e os valores relativos ou transformados sempre que estes sejam úteis para a avaliação. Se forem apresentados dados combinados ou resumidos, estes devem conter informações sobre a amplitude de valores, a média, a mediana e, se aplicável, o desvio-padrão.

As doses a testar, incluindo a mais elevada, devem ser selecionadas com base nos resultados dos testes de curto prazo, bem como nos dados referentes ao metabolismo e à toxicocinética, sempre que estes estejam disponíveis aquando da planificação dos estudos em questão. A seleção da dose deve atender aos dados toxicocinéticos, como a saturação da absorção medida através da disponibilidade sistémica da substância ativa e/ou dos metabolitos.

▼B

As doses que causem toxicidade excessiva não devem ser consideradas relevantes para as avaliações previstas. Os estudos de longo prazo devem incluir a determinação da concentração no sangue da substância ativa (por exemplo, em redor da T_{max}).

A incidência de tumores benignos e malignos não deve ser considerada em conjunto, nem na colheita de dados nem na elaboração dos relatórios. Tumores distintos e não associados, quer benignos quer malignos, que ocorram no mesmo órgão, não devem ser considerados em conjunto no relatório.

Para evitar equívocos, deve ser utilizada na classificação e registo dos tumores a terminologia histopatológica convencional utilizada normalmente aquando da realização do estudo, como por exemplo a publicada pela Agência Internacional de Investigação do Cancro. O sistema utilizado deve ser indicado.

O material biológico selecionado para exame histopatológico deve incluir material suscetível de fornecer informações adicionais sobre lesões identificadas durante o exame macroscópico. Sempre que estejam disponíveis e sejam relevantes para elucidar o mecanismo de ação, podem revelar-se úteis técnicas histológicas especiais (de coloração), técnicas histoquímicas e observações ao microscópio eletrónico e, quando realizadas, as mesmas devem ser comunicadas.

5.6. **Toxicidade para a reprodução**

Os efeitos possíveis sobre a fisiologia reprodutiva e o desenvolvimento de descendência devem ser investigados e notificados, no tocante aos seguintes aspetos:

— Distúrbios das funções ou capacidades reprodutivas masculinas e femininas decorrentes, por exemplo, de efeitos sobre o ciclo do estro, o comportamento sexual, qualquer aspeto da espermatogénese ou da oogénese ou a atividade hormonal ou resposta fisiológica que interfira na capacidade de fertilizar, na própria fertilização ou no desenvolvimento do ovo fertilizado até à fase de implantação, inclusive.

— Efeitos nocivos para a descendência, por exemplo, qualquer efeito que interfira com o desenvolvimento normal antes e após o nascimento. Incluem-se malformações morfológicas tais como distância anogenital, retenção do mamilo e perturbações funcionais (tal como efeitos reprodutivos e neurológicos).

Os efeitos agravados ao longo das gerações devem ser comunicados.

A substância ativa e os seus metabolitos relevantes devem ser medidos no leite como investigação de segunda fase sempre que se observarem ou esperarem efeitos relevantes na descendência (por exemplo, a partir de estudos para a determinação do intervalo de concentrações).

Os efeitos neurotóxicos e imunotóxicos potenciais e os efeitos potencialmente relacionados com alterações do sistema hormonal devem ser cuidadosamente abordados e comunicados.

As investigações devem ter em conta todos os dados disponíveis e pertinentes, incluindo os resultados de estudos de toxicidade geral caso estejam incluídos os parâmetros relevantes (tais como, análise do sémen, ciclos do estro, histopatologia dos órgãos reprodutivos), bem como os conhecimentos relativos a análogos estruturais da substância ativa.

Embora os pontos de referência a utilizar na determinação da resposta ao tratamento devam ser resultantes de um controlo concomitante, os dados de controlos históricos podem ser úteis para a interpretação de determinados estudos de reprodução. Caso sejam apresentados, os dados de controlos históricos devem referir-se a estudos contemporâneos realizados com a mesma espécie e estirpe, mantida em condições semelhantes no mesmo laboratório.

▼B

As informações a fornecer no que se refere aos dados de controlos históricos devem incluir:

a) a identificação da espécie e da estirpe, o nome do fornecedor e a identificação específica da colónia, caso o fornecedor tenha mais do que uma localização geográfica;

b) o nome do laboratório e datas de realização do estudo;

c) a descrição das condições gerais em que os animais foram mantidos, incluindo o tipo ou marca dos alimentos e, sempre que possível, a quantidade consumida;

d) a idade aproximada, em dias, e o peso dos animais de controlo no início do estudo e no momento do sacrifício ou morte;

e) a descrição do padrão de mortalidade observado no grupo de controlo, durante o estudo ou no seu termo, e outras observações pertinentes (por exemplo, doenças, infeções);

f) o nome do laboratório e dos investigadores encarregues do exame e responsáveis pela obtenção e interpretação dos dados patológicos do estudo.

Os dados de controlos históricos devem ser apresentados numa base estudo a estudo, fornecendo valores absolutos e ainda as percentagens e os valores relativos ou transformados sempre que estes sejam úteis para a avaliação. Se forem apresentados dados combinados ou resumidos, estes devem conter informações sobre a amplitude de valores, a média, a mediana e, se aplicável, o desvio-padrão.

A fim de proporcionar informações úteis para a conceção e interpretação de estudos de toxicidade para o desenvolvimento, as informações sobre a concentração no sangue da substância ativa nos pais e no feto/descendência podem ser incluídas e comunicadas em estudos de nível mais elevado.

5.6.1. *Estudos geracionais*

Os estudos geracionais incluídos no relatório devem, juntamente com outros dados e informações relevantes sobre a substância ativa, ser suficientes para permitir a identificação dos efeitos sobre a reprodução decorrentes de uma exposição repetida à substância ativa e, nomeadamente, para:

a) identificar os efeitos diretos e indiretos da exposição à substância ativa na reprodução;

b) identificar qualquer efeito nocivo não reprodutivo que se verifique com doses inferiores às dos ensaios de toxicidade crónica e a curto prazo;

c) estabelecer o NSEAO para a toxicidade parental, o resultado reprodutivo e desenvolvimento da descendência.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Deve ser comunicado um estudo da toxicidade para a reprodução em ratos, pelo menos em duas gerações.

O estudo alargado de toxicidade reprodutiva de uma geração da OCDE pode ser considerado como uma alternativa ao estudo multigerações.

▼B

Quando for necessário para uma melhor interpretação dos efeitos ao nível da reprodução, e caso não estejam disponíveis tais informações, poderá ser necessário realizar estudos complementares para obter informações sobre o género afetado e os possíveis mecanismos.

5.6.2. *Estudos de toxicidade para o desenvolvimento*

Os estudos de toxicidade para o desenvolvimento incluídos no relatório devem, juntamente com outros dados e informações relevantes sobre a substância ativa, ser suficientes para permitir a avaliação dos efeitos no que se refere ao desenvolvimento embrionário e fetal, decorrentes de uma exposição repetida à substância ativa e, nomeadamente, para:

a) identificar os efeitos diretos e indiretos da exposição à substância ativa no desenvolvimento embrionário e fetal;

b) identificar qualquer toxicidade materna;

c) determinar a relação entre as respostas observadas e a dose, tanto nas fêmeas progenitoras, como na descendência;

d) estabelecer o NSEAO para a toxicidade materna e o desenvolvimento da descendência;

e) fornecer informações adicionais sobre os efeitos nocivos em fêmeas prenhes em comparação com fémeas não prenhes;

f) fornecer informações adicionais sobre um eventual aumento dos efeitos tóxicos gerais nas fêmeas prenhes.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os estudos de toxicidade para o desenvolvimento devem ser sempre realizados.

Condições de ensaio

A toxicidade para o desenvolvimento deve ser determinada em ratos e em coelhos, por via oral; o estudo em ratos não deve ser efetuado se a toxicidade para o desenvolvimento tiver sido corretamente avaliada como parte de um estudo alargado de toxicidade reprodutiva de uma geração.

A avaliação do risco para o ser humano pode beneficiar do estudo de vias adicionais. As malformações e as variações devem ser comunicadas separadamente e combinadas por forma a que todas as alterações pertinentes em padrões característicos observadas em fetos individuais, assim como as que possam ser consideradas como representativas de graus diferentes de gravidade do mesmo tipo de alteração, sejam comunicadas de uma forma concisa.

Os critérios de diagnóstico das malformações e variações devem constar do relatório. Deve utilizar-se, sempre que possível, o glossário de terminologia em desenvolvimento pela *International Federation of Teratology Societies*.

Podem ser necessários estudos ou informações complementares para a obtenção de informações sobre a manifestação pós-natal de efeitos como a neurotoxicidade para o desenvolvimento, sempre que tal seja indicado por observações noutros estudos ou pelo modo de ação da substância ensaiada.

▼B

5.7. **Estudos de neurotoxicidade**

5.7.1. *Estudo de neurotoxicidade em roedores*

Os estudos de neurotoxicidade em roedores devem fornecer dados suficientes para avaliar a neurotoxicidade potencial da substância ativa (efeitos neurocomportamentais e neuropatológicos) após exposição única e repetida.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Estes estudos devem ser executados para substâncias ativas com estruturas semelhantes ou relacionadas com outras capazes de induzir a neurotoxicidade e para substâncias ativas que induzam indicações específicas de neurotoxicidade potencial, sinais neurológicos ou lesões neuropatológicas em estudos de toxicidade em doses não associadas a uma toxicidade geral acentuada. A realização de tais estudos deve ser também considerada para substâncias com um modo de ação pesticida neurotóxico.

Deve ter-se em consideração a inclusão de investigações de neurotoxicidade em estudos de toxicologia de rotina.

5.7.2. *Estudos de polineuropatia retardada*

Os estudos de polineuropatia retardada devem fornecer dados suficientes para avaliar se a substância ativa pode provocar polineuropatia retardada após exposição aguda e repetida. Poderá prescindir-se de um estudo de exposição repetida, exceto quando existirem indicações de que o composto se acumula e se se verificar uma inibição significativa da esterase envolvida na neuropatia ou se ocorrerem sinais clínicos/histopatológicos de polineuropatia retardada em redor da DL_{50} para as galinhas, tal como determinada no ensaio de dose única.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Estes estudos devem ser realizados para substâncias ativas com estrutura semelhante ou aparentada à das substâncias capazes de induzir polineuropatia retardada, tais como os compostos organofosforados.

5.8. **Outros estudos toxicológicos**

5.8.1. *Estudos de toxicidade dos metabolitos*

Os estudos complementares relativos a substâncias diferentes da substância ativa não são sistematicamente exigidos. A necessidade de estudos complementares deve ser determinada caso a caso.

Sempre que, em resultado do metabolismo ou de outros processos, os metabolitos presentes nos produtos vegetais ou animais, no solo, nas águas subterrâneas e no ar ambiente forem diferentes dos presentes nos animais utilizados em estudos toxicológicos ou sejam detetados em baixas proporções nos animais, é necessário efetuar mais ensaios numa base caso a caso, tendo em conta a quantidade do metabolito e a sua estrutura química comparada com a da substância parental.

5.8.2. *Estudos complementares da substância ativa*

Devem ser efetuados estudos complementares sempre que os mesmos se revelem necessários para uma maior clarificação dos efeitos observados, tomando em consideração os resultados dos estudos toxicológicos e de metabolismo já efetuados e as vias de exposição mais importantes. Estes estudos podem incluir:

a) estudos relativos à absorção, distribuição, excreção e metabolismo, numa segunda espécie;

▼B

b) estudos do potencial imunotóxico;

c) um estudo de dose única orientado para derivar os valores de referência agudos adequados (DAR e AOELa);

d) estudos com outras vias de administração;

e) estudos do potencial carcinogénico;

f) estudos dos efeitos de mistura.

Os estudos exigidos devem ser concebidos caso a caso, tendo em conta os parâmetros específicos a investigar e os objetivos a atingir.

5.8.3. *Propriedades perturbadoras do sistema endócrino*

Se existirem provas de que a substância ativa pode apresentar propriedades perturbadoras do sistema endócrino, exigem-se informações complementares ou estudos específicos:

— para elucidar o modo/mecanismo da ação,

— para fornecer provas suficientes dos efeitos nocivos pertinentes.

Os estudos exigidos devem ser concebidos caso a caso considerando as orientações da União ou as orientações acordadas internacionalmente, tendo em conta os parâmetros específicos a investigar e os objetivos a atingir.

5.9. **Dados médicos**

Sem prejuízo do disposto no artigo 10.º da Diretiva 98/24/CE do Conselho ([1]), devem ser apresentados os dados práticos e informações disponíveis, pertinentes para o reconhecimento dos sintomas de envenenamento, bem como os relacionados com a eficácia dos primeiros socorros e das medidas terapêuticas. Esses dados e informações devem incluir relatórios de quaisquer estudos farmacológicos que investiguem os antídotos e a segurança. Quando for apropriado, a eficiência de potenciais antagonistas contra o envenenamento deve ser investigada e comunicada.

Os dados e informações pertinentes no que se refere aos efeitos da exposição no ser humano, sempre que estejam disponíveis, devem ser usados para confirmar a validade das extrapolações efetuadas e das conclusões alcançadas no que se refere aos órgãos-alvo, às relações dose-resposta e à reversibilidade dos efeitos nocivos. Estes dados podem ser obtidos a partir da exposição acidental ou profissional ou de incidentes de auto-envenenamento intencional, devendo ser comunicados quando disponíveis.

5.9.1. *Vigilância médica do pessoal das instalações fabris e estudos de monitorização*

Devem ser apresentados os relatórios dos programas de vigilância da medicina do trabalho e de estudos de monitorização, apoiados por informações pormenorizadas sobre a conceção do programa, o número de indivíduos expostos incluídos no programa, a natureza da respetiva exposição à substância ativa e a sua exposição a outros agentes potencialmente perigosos. Estes relatórios devem, sempre que possível, incluir dados relativos ao mecanismo de ação da substância ativa. Os relatórios devem incluir os dados disponíveis relativos a pessoas expostas nas fábricas ou durante ou após a aplicação da substância ativa (por exemplo, obtidos a partir de estudos de monitorização junto de operadores, trabalhadores, residentes, pessoas que se encontrem nas proximidades ou vítimas

([1]) JO L 131 de 5.5.1998, p. 11.

▼B

de acidentes). Devem ser fornecidas as informações disponíveis quanto aos efeitos nocivos para a saúde, incluindo respostas alérgicas, de trabalhadores e outros indivíduos expostos à substância ativa e, se for caso disso, informações quanto aos pormenores de qualquer incidente. Sempre que disponíveis, devem ser indicados a frequência, intensidade e duração da exposição, os sintomas observados e outras informações clínicas pertinentes.

5.9.2. *Dados recolhidos em humanos*

Sempre que disponíveis, devem ser apresentados relatórios de estudos em humanos, tais como ensaios da toxicocinética e do metabolismo ou ensaios de irritação ou sensibilização cutânea.

De modo geral, os valores de referência devem basear-se em estudos com animais, mas se existirem dados adequados cientificamente válidos e eticamente produzidos em humanos que revelem que o ser humano é mais sensível, dando origem a valores-limites regulamentares mais baixos, estes dados prevalecem sobre os dados obtidos com animais.

5.9.3. *Observações diretas*

Devem ser apresentados, juntamente com os relatórios de eventuais estudos de acompanhamento, relatórios relativos a casos clínicos e incidentes de envenenamento que tenham sido publicados em revistas com arbitragem científica ou em relatórios oficiais. Esses relatórios devem, sempre que disponíveis, incluir a descrição completa da natureza, intensidade e duração da exposição, bem como os sintomas clínicos observados, os primeiros socorros e as medidas terapêuticas aplicadas, bem como as medições e observações efetuadas.

Quando devidamente fundamentada por informações suficientemente pormenorizadas, a documentação referida deve ser utilizada para confirmar a validade da extrapolação ao homem dos dados obtidos com animais e para identificar efeitos nocivos inesperados, específicos ao homem.

5.9.4. *Estudos epidemiológicos*

Devem também ser apresentados quaisquer estudos epidemiológicos pertinentes que estejam disponíveis.

5.9.5. *Diagnóstico de envenenamento (determinação da substância ativa, metabolitos), sinais específicos de envenenamento, testes clínicos*

Deve ser apresentada uma descrição pormenorizada dos sinais clínicos e dos sintomas de envenenamento, incluindo sinais e sintomas precoces, e uma descrição pormenorizada dos testes clínicos que possam ser utilizados no diagnóstico, caso existam; devem também ser incluídas informações completas relativas à evolução temporal relacionada com a ingestão, a exposição cutânea ou a inalação de diferentes quantidades da substância ativa.

5.9.6. *Tratamento proposto: medidas de primeiros socorros, antídotos, tratamento clínico*

Devem ser indicadas as medidas de primeiros socorros a utilizar em caso de envenenamento (verificado ou suspeito) e em caso de contacto com os olhos. Deve ser feita uma descrição completa dos regimes terapêuticos a utilizar no caso de intoxicação ou de contacto com os olhos incluindo, se possível, o uso de antídotos. Se relevante, devem ser fornecidas informações, quer com base na experiência prática, sempre que existam e estejam disponíveis, quer baseadas em argumentos teóricos, sobre a eficácia de eventuais regimes de tratamento alternativos. Devem ser descritas as contraindicações associadas a regimes específicos, particularmente os relacionados com insuficiências e doenças crónicas.

▼B

5.9.7. *Efeitos previsíveis do envenenamento*

Caso sejam conhecidos, devem ser descritos os efeitos previsíveis do envenenamento e a duração destes efeitos após envenenamento. Essa descrição deve incluir o impacto:

— do tipo, intensidade e duração da exposição, ou da ingestão, e

— da variação do intervalo decorrido entre a exposição ou a ingestão e o início do tratamento.

SECÇÃO 6

Resíduos no interior e à superfície de produtos, géneros alimentícios e alimentos para animais, tratados

6.1. **Estabilidade dos resíduos à armazenagem**

Os estudos relativos à estabilidade dos resíduos à armazenagem devem investigar a estabilidade dos resíduos em vegetais, produtos vegetais e produtos de origem animal durante a armazenagem antes Da análise.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Exceto no caso de compostos reconhecidamente voláteis ou lábeis, não são exigidos dados sobre a estabilidade relativos a amostras extraídas e analisadas num prazo de 30 dias a contar da colheita (seis meses, no caso de materiais marcados radioativamente), desde que as referidas amostras tenham sido congeladas no prazo de 24 horas após a colheita.

A estabilidade dos extratos deve ser investigada se aqueles não forem analisados imediatamente.

Condições de ensaio

Os estudos com substâncias ativas não marcadas radioativamente devem ser efetuados com recurso a substratos representativos. Podem ser executados em amostras de culturas tratadas ou animais que apresentem resíduos ou por experiências de fortificação. Neste último caso, devem ser constituídas alíquotas de amostras de controlo previamente preparadas, que serão enriquecidas com uma quantidade conhecida de substância química, antes de serem armazenadas em condições normais de armazenagem.

Os estudos devem abordar a estabilidade dos componentes individuais da definição de resíduos pertinentes para a avaliação do risco, o que pode exigir o enriquecimento de amostras diferentes com analitos diferentes. No caso de objetivos analíticos diferentes (por exemplo, que visem um único componente ou a fração comum) pode ser necessário mais de um conjunto de dados relativos à estabilidade.

A duração dos estudos de estabilidade deve ser adequada para abranger o período durante o qual as amostras ou os extratos foram armazenados nos respetivos estudos.

Devem ser apresentadas informações pormenorizadas quanto à preparação das amostras e condições de armazenagem (temperatura e duração) das amostras e extratos. Quando a degradação durante a armazenagem for significativa (mais de 30%), pode ser considerada uma alteração das condições de armazenagem ou não armazenar as amostras antes da análise. Devem ser repetidos todos os estudos para os quais foram utilizadas condições de armazenagem insatisfatórias.

Devem também ser exigidos dados relativos à estabilidade durante a armazenagem obtidos a partir de extratos de amostras, exceto nos casos em que as amostras sejam analisadas 24 horas, no máximo, após a extração.

▼B

Os resultados devem ser apresentados como valores absolutos em mg/kg e não ajustados pela recuperação, bem como em percentagem do valor de enriquecimento nominal.

6.2. **Metabolismo, distribuição e expressão de resíduos**

Devem ser apresentados dados sobre o metabolismo representativos de boas práticas agrícolas (BPA) existentes ou previstas juntamente com um diagrama esquemático das vias metabólicas em vegetais e animais, acompanhado de uma breve explicação da distribuição e das reações químicas envolvidas. Estes estudos devem ser executados com uma ou mais formas da substância ativa marcadas radioativamente e, sempre que pertinente, os estereoisómeros da substância ativa e dos seus metabolitos. Para extratos vegetais pode ser empreendida uma abordagem diferente adequadamente justificada.

Para os vegetais, os objetivos destes estudos devem ser:

a) fornecer uma estimativa dos resíduos terminais totais nas partes relevantes das plantas aquando da colheita na sequência do tratamento proposto;

b) identificar os principais constituintes do resíduo terminal total;

c) indicar a distribuição dos resíduos pelas partes relevantes da planta;

d) quantificar os principais constituintes do resíduo e demonstrar a eficiência dos processos de extração dos mesmos;

e) caracterizar e quantificar os resíduos conjugados e ligados;

f) indicar os componentes a serem analisados nos estudos de quantificação de resíduos (estudos de resíduos em cultura);

Para os animais produtores de alimentos, os objetivos destes estudos devem ser:

a) fornecer uma estimativa dos resíduos terminais totais em produtos comestíveis de origem animal;

b) identificar os principais constituintes do resíduo terminal total em produtos comestíveis de origem animal;

c) indicar a distribuição dos resíduos nos produtos comestíveis de origem animal relevantes;

d) fornecer provas de que um resíduos deve ou não ser classificado como lipossolúvel;

e) quantificar o resíduo total em certos produtos (leite ou ovos) e excreções animais;

f) quantificar os principais constituintes do resíduo e demonstrar a eficiência dos processos de extração dos mesmos;

g) caracterizar e quantificar os resíduos conjugados e ligados;

h) indicar os componentes a serem analisados nos estudos de quantificação de resíduos (estudos de ingestão em animais de criação);

▼B

i) obter dados que permitam tomar uma decisão quanto à necessidade de efetuar os estudos de ingestão em animais destinados à produção de alimentos;

Os resultados do estudo sobre o metabolismo efetuado em aves de capoeira, em regra geral, galinhas poedeiras, devem ser extrapolados para todas as aves de capoeira produtoras de alimentos, enquanto os resultados do estudo sobre o metabolismo realizado com ruminantes, normalmente caprinos lactantes e, sempre que necessário, com suínos devem ser extrapolados a todos os mamíferos produtores de alimentos.

Os metabolitos não encontrados nos estudos ADME ou que não possam ser explicados como intermediários, mas que tenham sido identificados em estudos de metabolismo/transformação (vegetais, animais produtores de alimentos, transformação e culturas rotativas) devem ser considerados relevantes para a avaliação do risco para os consumidores, exceto quando se possa demonstrar por dados científicos (tal como a relação estrutura-atividade, estudos de interligação toxicológica) que, à luz da sua concentração, não constituem riscos potenciais para os consumidores.

6.2.1. *Vegetais*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser executados estudos em vegetais exceto quando nenhuma parte do vegetal ou dos produtos vegetais forem utilizados como matérias para géneros alimentícios ou alimentos para animais ou quando se tratar de uma situação de resíduos «zero» (tais como as aplicações como isco).

Condições de ensaio

O método previsto de aplicação (tal como o tratamento de sementes, pulverização do solo/foliar, imersão, nebulização) e as propriedades da substância ativa (tais como propriedades sistémicas ou volatilidade) devem ser tidas em conta na preparação dos estudos de metabolismo. Os estudos de metabolismo devem incluir culturas de categorias de culturas diferentes em que poderiam vir a ser utilizados produtos fitofarmacêuticos contendo a substância ativa em questão. Neste contexto, as culturas devem ser classificadas numa das seguintes categorias:

a) frutos (código F);

b) culturas de raízes (código R);

c) culturas de folha (código L);

d) culturas de cereais/gramíneas (código C/G);

e) leguminosas e oleaginosas (código P/O);

f) diversos.

A categoria «diversos» apenas deve ser utilizada numa base caso a caso.

Deve ser apresentado um estudo de metabolismo para cada tipo de grupo de culturas para o qual se propõe a utilização. Para extrapolar os resultados dos estudos de metabolismo com uma substância ativa para todos os grupos de culturas, devem ser realizados estudos de metabolismo num mínimo de três culturas representativas (dos vários grupos de culturas exceto «diversos»). Se os resultados destes três estudos indicarem uma via metabólica comparável (qualitativamente e em menor grau quantitativamente) não serão necessários estudos adicionais. Se os resultados dos estudos disponíveis de três destas categorias indicarem que a via de degradação não é semelhante nas três categorias, devem ser apresentados estudos relativos às categorias restantes, exceto «diversos».

▼B

Se se solicitar autorização apenas para um grupo de culturas, os estudos de metabolismo numa cultura daquele grupo de culturas deve ser suficiente desde que a cultura seja verdadeiramente representativa do grupo de culturas e a via metabólica seja determinada.

Os estudos devem refletir o padrão de utilização previsto do ingrediente ativo, tal como tratamento foliar, do solo/das sementes ou pós-colheita. Se, por exemplo, tiverem sido realizados três estudos utilizando aplicação foliar e, posteriormente, for proposta uma aplicação no solo (tal como o tratamento de sementes, aspersão granular ou do solo), deve realizar-se pelo menos um estudo adicional que reflita a aplicação no solo. O requerente deve debater com as autoridades nacionais competentes a possível substituição de um estudo foliar por um estudo pós-colheita.

Deve ser apresentada uma avaliação dos resultados dos diferentes estudos:

a) sobre o local da absorção (por exemplo, através das folhas ou das raízes);

b) sobre a formação de metabolitos e produtos de degradação;

c) sobre a distribuição de resíduos entre partes pertinentes da cultura na altura da colheita (com destaque especial para os géneros alimentícios e os alimentos para animais);

d) sobre as vias metabólicas.

Se os estudos revelarem que a substância ativa ou os metabolitos relevantes ou produtos de degradação não são absorvidos pela cultura, este facto deve ser explicado.

6.2.2. *Aves de capoeira*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser apresentados estudos de metabolismo em aves de capoeira sempre que o produto fitofarmacêutico se destinar a ser utilizado em culturas cujas partes ou produtos, inclusivamente após transformação, sirvam de alimento para aves de capoeira e sempre que se preveja que a ingestão ultrapasse 0,004 mg/kg pc/dia ([1]).

Condições de ensaio

Os estudos devem ser realizados em galinhas poedeiras.

As doses devem ser, pelo menos, equivalentes à exposição máxima diária provável resultante de todas as utilizações previstas.

Se a identificação dos metabolitos não puder ser efetuada com doses de 10 mg/kg de alimentos para animais (matéria seca), podem ser utilizadas doses mais elevadas.

Se não forem realizados estudos em alimentos para animais, o estudo de metabolismo deve demonstrar a dose estacionária em ovos, tendo em conta que as doses estacionárias se verificam normalmente até 14 dias após o início da dosagem nas aves de capoeira poedeiras.

([1]) mg/kg/ pc/dia = mg de substância ativa / kg de peso corporal da espécie em questão / dia.

▼B

6.2.3. *Ruminantes lactantes*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser apresentados estudos de metabolismo em ruminantes lactantes sempre que o produto fitofarmacêutico se destinar a ser utilizado em culturas cujas partes ou produtos, inclusivamente após transformação, servirem de alimento para ruminantes e sempre que se preveja que a ingestão ultrapasse 0,004 mg/kg pc/dia.

Condições de ensaio

Os estudos devem ser realizados em caprinos lactantes, quando disponíveis, ou alternativamente em bovinos lactantes.

As doses devem ser, pelo menos, equivalentes à exposição máxima diária provável resultante de todas as utilizações previstas.

Se a identificação dos metabolitos principais não puder ser efetuada com doses de 10 mg/kg de alimentos para animais (matéria seca), podem ser utilizadas doses mais elevadas.

Se não forem realizados estudos em alimentos para animais, o estudo de metabolismo deve demonstrar a dose estacionária no leite, tendo em conta que as doses estacionárias se verificam normalmente cinco a sete dias após o início da dosagem nos ruminantes lactantes.

6.2.4. *Suínos*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser apresentados estudos de metabolismo em suínos sempre que o produto fitofarmacêutico se destinar a ser utilizado em culturas cujas partes ou produtos, inclusivamente após transformação, servirem de alimento para suínos, sempre que se verifique que as vias metabólicas são significativamente diferentes nos ratos em comparação com os ruminantes e sempre que se preveja que a ingestão ultrapasse 0,004 mg/kg pc/dia.

Condições de ensaio

Os estudos devem ser realizados em suínos.

As doses devem ser, pelo menos, equivalentes à exposição máxima diária provável resultante de todas as utilizações previstas.

Se a identificação dos metabolitos não puder ser efetuada com doses de 10 mg/kg de alimentos para animais (matéria seca), podem ser utilizadas doses mais elevadas.

A duração do estudo deve ser a mesma que para os ruminantes lactantes.

6.2.5. *Peixes*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Podem ser exigidos estudos de metabolismo em peixes sempre que o produto fitofarmacêutico seja utilizado em culturas cujas partes ou produtos, inclusivamente após transformação, sirvam de alimento para peixes e sempre que se possam detetar resíduos nesses alimentos decorrentes das aplicações pretendidas.

Os resultados dos estudos previstos no ponto 8.2.2.3 podem ser utilizados se se puder demonstrar com base em provas científicas que os resultados destes estudos se podem presumir como equivalentes. Há que prestar especial atenção às diferentes vias de ingestão.

▼B

6.3. **Ensaios da magnitude dos resíduos nos vegetais**

Os ensaios da magnitude dos resíduos nos vegetais têm como objetivo:

— quantificar os níveis máximos prováveis de todos os componentes das diferentes definições de resíduos nas culturas tratadas, à colheita ou à saída do armazém, em conformidade com as BPA propostas, e

— determinar, quando adequado, a taxa de dissipação dos resíduos do produto fitofarmacêutico nos vegetais.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Estes estudos devem ser realizados sempre que o produto fitofarmacêutico se destine a ser aplicado em vegetais ou produtos vegetais utilizados na alimentação humana ou animal, ou sempre que os respetivos resíduos no solo ou noutros substratos possam ser absorvidos pelos referidos vegetais, exceto quando seja possível fazer uma extrapolação a partir de dados adequados relativos a outra cultura.

Ao planear ensaios de resíduos, deve ter-se em atenção que as informações sobre os resíduos em culturas maduras ou verdes podem revestir-se de interesse para a avaliação do risco noutras áreas como a ecotoxicologia ou a segurança dos trabalhadores.

Condições de ensaio

Os ensaios supervisionados de resíduos devem corresponder às BPA essenciais propostas. As condições do ensaio (tais como o número máximo de aplicações propostas, o intervalo mínimo entre aplicações, a dose máxima de aplicação e a concentração, os intervalos de segurança mais críticos [1]) relativamente à exposição) devem ser definidas para determinar os principais resíduos que se podem formar e devem representar as condições reais, no âmbito das BPA essenciais, em que a substância ativa venha a ser utilizada.

Ao definir um programa de ensaios supervisionados de resíduos, devem ter-se em conta fatores como as principais áreas de cultura e as várias condições suscetíveis de se verificarem nessas principais áreas de cultura.

Devem ter-se em conta as diferenças dos métodos de produção agrícola (por exemplo, utilização no exterior *versus* utilização no interior), as estações de produção e os tipos de formulações.

Para a avaliação do comportamento dos resíduos e a definição de limites máximos de resíduos (LMR) de acordo com o Regulamento (CE) n.º 396/2005, a União deve ser dividida em duas zonas, uma zona da Europa do Norte e uma zona da Europa do Sul. Para efeitos de utilização em estufas, no tratamento pós-colheita e no tratamento de espaços de armazenagem vazios, deve aplicar-se uma zona de resíduos.

O número de ensaios necessário é difícil de determinar antes da avaliação dos respetivos resultados. Assumindo que todas as restantes variáveis com impacto nos níveis de resíduos são comparáveis, o número mínimo de ensaios deve variar para cada zona de resíduos entre um mínimo de quatro ensaios para uma cultura menor e um mínimo de oito ensaios para uma cultura principal.

[1]) Nesta secção, os intervalos de segurança referem-se a intervalos pré-colheita (PHI), períodos de retenção ou de armazenagem, no caso de tratamentos pós-colheita.

▼B

No entanto, se as BPA forem as mesmas nas duas zonas de resíduos, são normalmente suficientes para uma cultura menor seis ensaios distribuídos uniformemente nas zonas de cultura representativas.

O número de estudos a realizar pode ser reduzido caso os níveis de resíduos nos vegetais ou produtos vegetais seja inferior ao LOQ. O número de ensaios não deve ser inferior ao mínimo de três por zona para as culturas menores e quatro por zona para as culturas principais.

Nos casos em que se previr uma situação de resíduos «zero» a partir de estudos representativos de metabolismo vegetal, devem ser realizados três ensaios para os produtos significativos no regime alimentar. Não são necessários ensaios para produtos não significativos no regime alimentar. Uma situação de resíduos «zero» deve ser prevista sempre que não se verifiquem resíduos detetáveis nos estudos com taxas de aplicação exageradas em comparação com as taxas previstas.

Desde que as condições sejam comparáveis e que os ensaios sejam espalhados por diferentes zonas, é suficiente efetuar ensaios durante um período vegetativo.

Parte dos ensaios pode ser substituída por ensaios efetuados fora da União, desde que correspondam às BPA essenciais e que as condições de produção (tais como práticas agrícolas ou condições climatéricas) sejam comparáveis.

Os ensaios do comportamento dos resíduos em tratamentos pós-colheita devem ser efetuados em locais diferentes com cultivares diferentes. Deve ser realizado um conjunto de ensaios para cada método de aplicação e tipo de armazenagem, exceto nos casos em que se possa identificar claramente a situação mais desfavorável em termos de resíduos.

Sempre que um produto fitofarmacêutico tenha uma utilização tanto no campo e como em interiores com a mesma BPA, deve ser apresentado para ambas as situações um conjunto completo de dados, exceto se já estiver aceite que essa utilização constitui a BPA essencial.

Deve verificar-se caso a caso, tendo em conta a morfologia vegetal e as condições de aplicação, se é possível a extrapolação da cultura utilizada para o estudo de metabolismo para outras culturas pertencentes ao mesmo grupo de culturas.

Sempre que uma parte comestível do produto esteja presente em quantidades significativas no momento da aplicação, os relatórios de metade dos ensaios supervisionados de resíduos devem incluir dados que ilustrem o efeito do tempo no nível de resíduos presente (estudos de degradação de resíduos), exceto se a parte comestível não for exposta durante a aplicação do produto fitofarmacêutico nas condições de utilização propostas. Para as culturas colhidas após floração (tais como frutos ou frutos de hortícolas) uma parte significativa da cultura comestível está presente a partir da fase de plena floração (BBCH 65). No caso da maioria das culturas cujas folhas são colhidas (por exemplo, alface), esta condição é cumprida se se encontrarem por abrir seis folhas, pares de folhas ou verticilos (BBCH 16).

No caso de uma substância ativa para a qual foi derivada uma DAR, a distribuição de resíduos entre as unidades individuais pode ser investigada através de estudos de variabilidade. Se estiver disponível um número suficiente de resultados, o fator de variabilidade por defeito pode ser substituído por um fator específico derivado destes estudos.

▼B

6.4. **Estudos alimentares com animais**

O objetivo dos estudos alimentares com animais deve ser determinar resíduos em produtos de origem animal resultantes de resíduos nos alimentos para animais.

Os resultados de um estudo alimentar com animais realizado com galinhas poedeiras devem ser extrapolados para todas as aves produtoras de alimentos. Os resultados de um estudo alimentar com animais realizado com vacas em lactação e, se necessário, com suínos devem ser extrapolados para todos os mamíferos produtores de alimentos.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os estudos alimentares com animais devem ser apresentados sempre que os estudos de metabolismo indiquem que se podem ocorrer resíduos em níveis superiores a 0,01 mg/kg em tecidos animais comestíveis, leite, ovos ou peixes, tendo em conta os níveis de resíduos em potenciais alimentos para animais, obtidos a uma dose de 1 x, calculada com base no peso seco.

Não serão necessários estudos alimentares com animais quando a ingestão for inferior a 0,004 mg/kg/dia, exceto em casos em que o resíduo, ou seja a substância ativa, os seus metabolitos ou produtos de degradação, tal como constantes da definição de resíduo para efeitos de avaliação do risco, revele tendência para se acumular.

6.4.1. *Aves de capoeira*

Os estudos alimentares com aves de capoeira devem ser realizados em galinhas poedeiras. Para cada protocolo de tratamento selecionado, devem ser tratadas, pelo menos, nove galinhas.

De modo geral, os alimentos devem ser administrados em três dosagens (primeira dose = nível de resíduos esperado). Os animais devem receber as doses durante, pelo menos, 28 dias ou até se alcançar uma concentração estacionária nos ovos.

6.4.2. *Ruminantes*

Os estudos alimentares com ruminantes devem ser realizados em vacas em lactação. Para cada protocolo de tratamento selecionado, devem ser tratadas, pelo menos, três vacas leiteiras.

De modo geral, os alimentos devem ser administrados em três dosagens (primeira dose = nível de resíduos esperado). Os animais devem receber as doses durante, pelo menos, 28 dias ou até se alcançar uma concentração estacionária nos ovos.

6.4.3. *Suínos*

Sempre que se verifique, com base nos estudos de metabolismo, que existem diferenças significativas de metabolismo entre os suínos e os ruminantes, deve ser também realizado um estudo alimentar com suínos. Para cada protocolo de tratamento selecionado, devem ser tratados, pelo menos, três suínos.

De modo geral, os alimentos devem ser administrados em três dosagens (primeira dose = nível de resíduos esperado). Os animais devem receber as doses durante, pelo menos, o mesmo tempo que os ruminantes.

6.4.4. *Peixes*

Pode ser necessário um estudo alimentar com peixes nos casos em que se possa razoavelmente esperar resíduos a níveis superiores a 0,01 mg/kg em tecidos comestíveis, com base nas constatações do estudo de metabolismo em peixes e nos resíduos máximos previstos que se podem verificar nos alimentos para peixes. Deve prestar-se especial atenção às substâncias lipofílicas com uma tendência intrínseca para a acumulação.

▼B

6.5. **Efeitos da transformação**

6.5.1. *Natureza dos resíduos*

O objetivo dos estudos sobre a natureza dos resíduos deve ser o de estabelecer a eventual formação de produtos de degradação ou de reação a partir dos resíduos presentes nos produtos agrícolas não transformados, durante a transformação, que possam exigir uma avaliação do risco distinta.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser fornecidos estudos sobre a natureza dos resíduos na transformação sempre que os resíduos nos produtos de origem vegetal ou animal sujeitos a transformação possam surgir a níveis iguais ou superiores a 0,01 mg/kg (com base na definição de resíduo para a avaliação do risco do produto não transformado). No entanto, não são necessários estudos para os seguintes casos:

— substâncias com uma solubilidade em água < 0,01 mg/L,

— apenas sejam realizadas operações físicas simples que não envolvam uma mudança da temperatura do produto, tais como a lavagem, descasque ou espremedura, ou

— a distribuição de resíduos entre a polpa e a casca não comestível é o único efeito da transformação.

Condições de ensaio

Em função do teor esperado e da natureza química dos resíduos presentes no produto de origem vegetal ou animal, deve ser estudado um conjunto de situações de hidrólise representativas que simulem as operações de transformação relevantes nos casos pertinentes. Devem também ser considerados os efeitos dos processos que não a hidrólise e o potencial de formação de produtos de degradação significativos toxicologicamente.

Os estudos devem ser realizados com uma ou mais formas da substância ativa marcadas radioativamente.

6.5.2. *Distribuição do resíduo na casca não comestível e na polpa*

Os objetivos dos estudos relativos à distribuição do resíduo na casca não comestível e na polpa devem ser os seguintes:

— determinar a distribuição quantitativa dos resíduos entre a casca não comestível e a polpa,

— estimar os fatores de descasque, e

— permitir uma estimativa mais realista da ingestão de resíduos através do regime alimentar.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Estes estudos devem ser apresentados para produtos vegetais cuja casca não é comestível (como melões, bananas) ou é muito raramente ingerida pelos consumidores (tais como os citrinos).

Condições de ensaio

Estes estudos devem ser realizados como parte dos ensaios supervisionados de resíduos, dependendo o número de resultados comunicados do número de ensaios de resíduos efetuados. Há que prestar especial atenção à eventual contaminação da polpa. Devem tomar-se medidas de precaução para quantificar um nível máximo de resíduos realista.

▼B

6.5.3. *Magnitude dos resíduos em produtos transformados*

Os objetivos principais dos estudos relativos à magnitude dos resíduos em produtos transformados devem ser os seguintes:

— determinar a distribuição quantitativa dos resíduos nos diversos produtos transformados utilizados como géneros alimentícios ou alimentos para animais,

— estimar os fatores de transformação, e

— permitir uma estimativa mais realista da ingestão de resíduos através do regime alimentar.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser tidos em conta os seguintes pontos ao decidir da necessidade de realizar estes estudos de transformação:

a) a importância do produto transformado na alimentação humana (por exemplo, maçãs) ou animal (por exemplo, bagaço de maçã);

b) o nível de resíduos no vegetal ou produto vegetal a transformar (normalmente $\geq$ 0,1 mg/kg);

c) as propriedades físicas e químicas da substância ativa e dos respetivos metabolitos relevantes (por exemplo, a lipossolubilidade no caso da transformação do sementes de oleaginosas); e

d) a possibilidade de formação de produtos de degradação com significância a nível toxicológico após transformação do vegetal ou produto vegetal.

Se o nível de resíduos for inferior a 0,1 mg/kg, devem ser realizados estudos de transformação caso a contribuição do produto em causa para a dose diária máxima teórica (DDMT) for $\geq$ 10% da DDA ou se a dose diária estimada for $\geq$ 10% da DAR para o regime alimentar de qualquer grupo de consumidores europeu.

Não devem ser exigidos estudos de transformação se os vegetais ou os produtos vegetais forem exclusivamente utilizados crus (não transformados) na alimentação humana ou animal.

Em alguns casos, um simples cálculo deve ser suficiente para determinar o fator de transformação, tal como os fatores de concentração a partir da desidratação ou da diluição, desde que o processo de transformação em questão não seja suscetível de exercer uma influência sobre a natureza dos resíduos.

Transformação industrial

Se as propriedades da substância ativa, da impureza ou do metabolito, conforme adequado, indicarem que se podem concentrar numa dada fração transformada, será necessário um estudo de transformação mesmo em situações em que o resíduo nos vegetais ou nos produtos vegetais a transformar seja inferior a 0,1 mg/kg. Nestes casos, devem utilizar-se, sempre que necessário, taxas de aplicação exageradas até cinco vezes superiores ou intervalos pré-colheita reduzidos para alcançar um resíduo quantificável no interior ou à superfície do vegetal ou do produto vegetal a ser transformado. Não é necessário um estudo de transformação se as taxas de aplicação exageradas (até 5x) não produzirem um resíduo quantificável no vegetal ou no produto vegetal a ser transformado. A fitotoxicidade deve ser considerada ao equacionar a utilização de tratamentos com taxas exageradas.

▼B

Transformação doméstica

Para processos de transformação domésticos ou caseiros e industriais de pouco importância, sempre que não se encontrarem resíduos a um nível de 0,1 mg/kg ou superior no produto agrícola não transformado sob BPA recomendadas a partir de ensaios supervisionados de campo realizados com a taxa máxima indicada no rótulo e o intervalo pré-colheita mínimo, não são necessários estudos de transformação.

Condições de ensaio

Os estudos de transformação devem representar preparações domésticas (por exemplo, produtos hortícolas cozinhados) ou transformações industriais comerciais (por exemplo, produção de sumo de maçã). Os estudos de transformação devem ser realizados, pelo menos, numa cultura representativa de um grupo de culturas em que a utilização esteja prevista. Deve ser justificada e explicada a escolha da cultura e do processo de transformação.

A tecnologia utilizada nos estudos de transformação deve corresponder tanto quanto possível às condições reais normalmente utilizadas. Para cada cultura a analisar, devem ser efetuados dois estudos por processo de transformação para determinar fatores de concentração e diluição nos produtos transformados. Se estiver em utilização mais de um método de transformação, deve escolher-se aquele do qual se espera que resultem mais resíduos no produto transformado para consumo humano. Os resultados devem ser extrapolados para todas as culturas de um grupo de culturas submetido ao mesmo processo de transformação.

Quando os resultados (fator de transformação) dos dois estudos diferirem nos principais produtos transformados em mais de 50 %, devem ser apresentados outros estudos que permitam inferir um fator de transformação consistente.

Devem ser realizados estudos adicionais se, ao utilizar fatores de transformação inferidos por extrapolação, a estimativa da ingestão alimentar apresentar resultados superiores à DDA ou à DAR. Aqueles estudos devem ser realizados para os principais processos de transformação e produtos que contribuem mais para que a DDA e a DAR sejam ultrapassadas.

6.6. **Resíduos em culturas rotativas**

Os estudos relativos aos resíduos em culturas rotativas devem ser realizados por forma a permitir a determinação da natureza e a extensão da acumulação potencial de resíduos em culturas rotativas decorrente da absorção a partir do solo e da magnitude dos resíduos em culturas rotativas sob condições de campo realistas.

Os estudos em culturas rotativas não são necessários para utilizações de produtos fitofarmacêuticos em culturas permanentes (do grupo de culturas dos citrinos e pomóideas, por exemplo), culturas semipermanentes (como os espargos e o ananás) ou cogumelos, sempre que as rotações no mesmo substrato não façam parte das práticas agrícolas normais.

6.6.1. *Metabolismo em culturas rotativas*

Os objetivos dos estudos de metabolismo em culturas rotativas devem ser:

a) fornecer uma estimativa dos resíduos terminais totais nas partes relevantes das plantas aquando da colheita de culturas rotativas na sequência do tratamento proposto da cultura anterior;

b) identificar os principais constituintes do resíduo terminal total;

c) indicar a distribuição do resíduo pelas partes relevantes da cultura;

▼B

d) quantificar os principais componentes do resíduo;

e) indicar os componentes adicionais a serem analisados nos estudos de quantificação de resíduos (estudos de campo sobre rotação de culturas);

f) decidir sobre restrições à rotação de culturas; e

g) decidir sobre a necessidade de ensaios de resíduos no campo em culturas rotativas (estudos de campo limitados).

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser apresentados estudos de metabolismo em culturas rotativas se a substância ativa ou os metabolitos do solo forem persistentes no solo ou se verificarem concentrações significativas de metabolitos no solo.

Não são necessários estudos de metabolismo em culturas rotativas se puderem ser adequadamente representadas as condições do cenário mais desfavorável por outros estudos disponíveis em culturas tratadas em conformidade com o ponto 6.2.1, sempre que o produto fitofarmacêutico tiver sido aplicado diretamente no solo (por exemplo, como uma aplicação anterior à plantação ou à emergência).

Condições de ensaio

Os estudos de metabolismo devem envolver, pelo menos, três culturas de três grupos de culturas diferentes: raízes e tubérculos, hortícolas de folha e cereais. Os dados de outros grupos de culturas podem ser pertinentes para a fixação de LMR. Estas culturas devem ser plantadas no solo tratado com a taxa de aplicação máxima total para as culturas anteriores após um intervalo de pousio adequado que imite a perda da cultura no início da vegetação da cultura, a rotação da cultura no mesmo período vegetativo ou ano e a rotação da cultura no período vegetativo ou ano seguinte.

6.6.2. *Magnitude dos resíduos em culturas rotativas*

Os objetivos dos estudos de resíduos em culturas rotativas devem ser:

a) permitir uma avaliação da magnitude dos resíduos em culturas rotativas;

b) decidir sobre restrições à rotação de culturas;

c) fornecer informações para avaliar a significância geral dos resíduos para a avaliação dos riscos alimentares; e

d) decidir da necessidade de LMR para culturas rotativas.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Se os estudos de metabolismo indicarem a possibilidade de ocorrência de resíduos da substância ativa ou de metabolitos ou de produtos de degradação relevantes originada quer pelo metabolismo dos vegetais quer pelo metabolismo no solo (> 0,01 mg/kg), devem efetuar-se estudos de campo limitados e, se necessário, ensaios de campo.

▼B

Não são necessários estudos para os seguintes casos:

— não se vão realizar estudos de metabolismo em culturas rotativas, ou

— os estudos de metabolismo em culturas rotativas revelam que não se preveem resíduos nas culturas rotativas que provoquem preocupações.

Condições de ensaio

Deve ser adotada uma abordagem por fases para alcançar os objetivos mencionados supra. Na primeira fase, devem realizar-se estudos de campo limitados em dois locais nas principais áreas de cultura. Deve utilizar-se o produto fitofarmacêutico para o qual se solicita autorização ou uma formulação muito semelhante.

Não são necessários mais estudos sempre que, com base nos resultados dos estudos da primeira fase, não forem previsíveis resíduos detetáveis (< 0,01 mg/kg) nas culturas rotativas ou se nos estudos de metabolismo não se observarem resíduos que exijam uma avaliação do risco.

Para a segunda fase, devem ser apresentados dados adicionais que permitam uma avaliação adequada dos riscos por via alimentar e a definição de LMR. Estes estudos devem abranger as práticas comuns de rotação de culturas. Devem ser realizados tendo em conta os requisitos constantes do ponto 6.3. Os ensaios devem ser efetuados o mais próximo possível das práticas agrícolas em culturas representativas dos principais grupos de culturas. Devem realizar-se, pelo menos, quatro ensaios por cultura em toda a União durante um período de um ano. Estes ensaios devem ser realizados nas principais áreas de produção na União utilizando a taxa de aplicação mais elevada para as culturas anteriores. Se as aplicações anuais de substâncias ativas persistentes derem origem a concentrações estacionárias no solo mais elevadas do que uma única aplicação, deve ter-se em conta a concentração estacionária. Os dados sobre os ensaios de resíduos necessários devem ser estabelecidos em consulta com as autoridades nacionais competentes nos Estados-Membros.

6.7. **Definições de resíduos e limites máximos de resíduos propostos**

6.7.1. *Definições de resíduos propostas*

Devem ser considerados os seguintes elementos ao decidir quais os componentes a incluir na definição de resíduos:

— a significância toxicológica dos compostos,

— as quantidades suscetíveis de estar presentes, e

— os métodos analíticos propostos para efeitos de controlo e monitorização pós-aprovação.

Podem ser necessárias duas definições de resíduos: uma para fins de controlo da execução, com base no conceito de marcador e uma para efeitos de avaliação do risco, tendo em conta os compostos toxicologicamente relevantes.

O trabalho analítico nos ensaios de resíduos e estudos alimentares com animais deve abranger todos os componentes da definição de resíduos para a avaliação do risco.

6.7.2. *Limites máximos de resíduos (LMR) propostos e justificação da aceitabilidade dos limites propostos*

Deve ser apresentado um limite máximo de resíduos para todos os produtos de origem vegetal e animal abrangidos pelo Regulamento (CE) n.º 396/2005. Em todos os restantes casos de produtos de origem vegetal

▼B

e animal utilizados como géneros alimentícios ou alimentos para animais e no caso do tabaco e de plantas medicinais, deve ser fornecido um limite de orientação, ou seja, um limite definido com base nos mesmos princípios que os utilizados para a definição do LMR.

No que se refere aos produtos transformados, devem ser indicados os fatores de transformação, exceto se não forem exigidos estudos de transformação.

Além disso, devem ser derivados os valores dos estudos controlados relativos aos resíduos medianos (STMR) e aos resíduos mais elevados (HR), bem como, nos casos em que sejam propostos fatores de transformação, os valores STMR-P e HR-P.

Em casos excecionais, quando cumpridas as condições constantes do artigo 16.º, n.º 1, do Regulamento (CE) n.º 396/2005, podem ser propostos LMR com base nos dados da monitorização. Nestes casos, a proposta deve abranger o 95.º percentil dos dados sobre a população com um nível de confiança de 95 %.

6.7.3. *Limites máximos de resíduos (LMR) propostos e justificação da aceitabilidade dos limites propostos para produtos importados (tolerância de importação)*

O ponto 6.7.2 é aplicável aos LMR propostos para os produtos importados (tolerância de importação).

6.8. **Intervalos de segurança propostos**

Os intervalos de segurança (ou seja, intervalos pré-colheita para os usos previstos, ou períodos de retenção ou de armazenamento, no caso de utilização pós-colheita) devem ser definidos tendo em conta a praga a controlar e os resultados dos dados relativos aos ensaios de resíduos. Estes intervalos devem ter, pelo menos, a duração de um dia.

6.9. **Estimativa da exposição potencial e real através do regime alimentar e por outras fontes**

Ao estimar a exposição deve ter-se em atenção que a avaliação do risco deve ter em conta a definição de resíduos estabelecida para a avaliação do risco.

Sempre que pertinente, deve ter-se em conta a eventual presença de resíduos de pesticidas provenientes de outras fontes que não as utilizações atuais das substâncias ativas enquanto produtos fitofarmacêuticos (por exemplo, a utilização de substâncias ativas que dão origem a metabolitos comuns, a utilização como biocida ou medicamento veterinário), bem como a sua exposição agregada. Além disso, deve considerar-se, quando pertinente, a exposição cumulativa a mais do que uma substância ativa.

6.10. **Outros estudos**

6.10.1. *Nível de resíduos no pólen e produtos apícolas*

O objetivo destes estudos é determinar o resíduo no pólen e nos produtos apícolas para consumo humano, resultantes dos resíduos transportados pelas abelhas das culturas em floração.

O tipo e as condições dos estudos a realizar devem ser debatidos com as autoridades nacionais competentes.

▼B

SECÇÃO 7

Destino e comportamento no ambiente

7.1. **Destino e comportamento no solo**

Todas as informações pertinentes sobre o tipo e as características do solo utilizado nos estudos, incluindo o valor do pH, o teor de carbono orgânico, a distribuição granulométrica e a capacidade de retenção de água devem ser apresentadas.

Imediatamente antes do início do estudo e no fim do mesmo, deve ser determinada a biomassa microbiana dos solos utilizados nos estudos laboratoriais de degradação.

Os solos utilizados nos estudos de degradação, adsorção e dessorção ou de mobilidade devem ser representativos da gama de solos característicos das diversas regiões da União onde a utilização exista ou esteja prevista.

Os solos devem preencher as condições que se indicam a seguir:

— devem abranger diversos teores de carbono orgânico, de distribuição granulométrica e valores de $pH_{(de\ preferência\ CaCl2)}$, e

— quando, com base noutras informações, se preveja que a degradação ou a mobilidade é função do pH, por exemplo, a solubilidade e as taxas de hidrólise (ver pontos 2.7 e 2.8), devem abranger aproximadamente os seguintes intervalos de $pH_{(de\ preferência\ CaCl2)}$: 5 a 6, 6 a 7 e 7 a 8.

As amostras de solo utilizadas devem, sempre que possível, ter sido recentemente colhidas. Se não houver alternativa à utilização de solos conservados, a armazenagem deve ser realizada por um período limitado (três meses, no máximo), em condições definidas e apresentadas, adequadas para manter a viabilidade microbiana do solo. Os solos armazenados durante períodos mais longos só podem ser utilizados nos estudos de adsorção/dessorção.

Não deve ser utilizado um solo com características extremas, no que se refere a parâmetros como a distribuição granulométrica, o teor de carbono orgânico e o pH.

Os ensaios de campo devem ser realizados em condições tão próximas quanto possível das práticas agrícolas normais e em solos e condições climatéricas representativas das áreas de utilização. Caso se realizem estudos de campo, devem ser apresentadas as condições meteorológicas.

7.1.1. *Via de degradação no solo*

Os dados e as informações fornecidos, juntamente com outros dados e informações pertinentes, devem ser suficientes para:

a) identificar, quando possível, a importância relativa dos tipos de processos envolvidos (balanço entre a degradação química e a degradação biológica);

b) identificar os componentes individuais presentes, que correspondem, em qualquer fase do estudo, a mais de 10 % da quantidade de substância ativa adicionada, incluindo, quando possível, os resíduos não extraíveis;

c) identificar, quando possível, os componentes individuais que correspondem em, pelo menos, duas medições sequenciais a mais de 5 % da quantidade de substância ativa adicionada;

▼B

d) identificar, quando possível, os componentes individuais (> 5%) para os quais no final do estudo a formação máxima não tiver sido ainda alcançada;

e) identificar ou caracterizar, quando possível, outros componentes individuais presentes;

f) estabelecer as proporções relativas dos componentes presentes (balanço de massa); e

g) definir o resíduo em causa no solo ao qual as espécies não visadas estão ou podem estar expostas.

Para efeitos da presente secção, resíduos não extraíveis são definidos como substâncias químicas com origem em substâncias ativas presentes em produtos fitofarmacêuticos utilizados em conformidade com boas práticas agrícolas que não podem ser extraídas através de métodos que não alterem significativamente a sua natureza química ou a natureza da matriz do solo. Considera-se que estes resíduos não extraíveis não incluem os fragmentos que, por transformação metabólica, conduzem a produtos naturais.

7.1.1.1. Degradação aeróbia

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A via ou as vias de degradação aeróbia devem ser indicadas, exceto quando a natureza e o modo de utilização dos produtos fitofarmacêuticos que contêm a substância ativa excluam a contaminação do solo, como no caso da utilização no interior em produtos armazenados ou de tratamentos para a cicatrização de árvores aplicados com pincel.

Condições de ensaio

Devem ser apresentados estudos sobre a via ou vias de degradação para um tipo de solo, pelo menos. Os níveis de oxigénio devem ser mantidos a níveis que não limitem a capacidade dos microrganismos de metabolizar aerobiamente. Se existirem provas de que a via de degradação está dependente de uma ou mais características do solo, tais como o pH ou o teor de argila, a via de degradação deve ser comunicada para, pelo menos, um outro solo cujas características em causa sejam diferentes.

Os resultados obtidos devem ser apresentados sob a forma de gráficos esquemáticos que indiquem as vias envolvidas, e de folhas de balanço que indiquem a distribuição do marcador radioativo, em função do tempo, entre:

a) substância ativa;

b) CO_2;

c) compostos voláteis, excluindo o CO_2;

d) produtos de transformação individuais identificados, referidos no ponto 7.1.1;

e) substâncias extraíveis não identificadas; e

f) resíduos no solo não extraíveis.

A investigação das vias de degradação deve incluir todas as medidas possíveis para caracterizar e quantificar os resíduos não extraíveis formados após um período de 100 dias quando estes correspondem a mais de 70 % da dose aplicada da substância ativa. A seleção das

▼B

melhores técnicas e metodologias a aplicar deve ser realizada caso a caso. Deve ser fornecida uma justificação quando os compostos em causa não sejam caracterizados.

A duração do estudo deve ser, pelo menos, de 120 dias, exceto quando após um período de tempo mais curto os teores de resíduos não extraíveis e de CO_2 sejam tais que possam ser extrapoláveis, de forma segura, para 100 dias. Deverá ter uma maior duração se tal se verificar necessário para definir a via de degradação da substância ativa e dos seus metabolitos e produtos de degradação ou de reação.

7.1.1.2. Degradação anaeróbia

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Deve ser apresentado um estudo de degradação anaeróbia, salvo se o requerente demonstrar que não é provável a exposição dos produtos fitofarmacêuticos que contenham a substância ativa a condições anaeróbias nas utilizações pretendidas.

Condições de ensaio

É aplicável o ponto 7.1.1.1 no que se refere às condições do ensaio, exceto os níveis de oxigénio que devem ser minimizados para garantir que os microrganismos metabolizam anaerobiamente.

7.1.1.3. Fotólise no solo

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Deve ser apresentado um estudo de fotólise no solo, exceto se o requerente demonstrar que a deposição da substância ativa na superfície do solo não é suscetível de ocorrer ou que não se prevê que a fotólise contribua significativamente para a degradação da substância ativa no solo, por exemplo, devido a uma fraca absorção da luz pela substância ativa.

7.1.2. *Taxa de degradação no solo*

7.1.2.1. Estudos laboratoriais

Os estudos laboratoriais de degradação no solo devem fornecer a melhor estimativa possível do tempo necessário à degradação de 50 % e 90 % ($TDeg50_{lab}$ e $TDeg90_{lab}$) da substância ativa e dos seus metabolitos e produtos de degradação e de reação em condições laboratoriais.

7.1.2.1.1. *Degradação aeróbia da substância ativa*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A taxa de degradação no solo deve ser indicada, exceto quando a natureza e o modo de utilização dos produtos fitofarmacêuticos que contêm a substância ativa excluam a contaminação do solo, como no caso da utilização no interior em produtos armazenados ou de tratamentos para a cicatrização de árvores aplicados com pincel.

Condições de ensaio

Devem ser apresentados estudos sobre a taxa de degradação anaeróbia da substância ativa em, pelo menos, três solos para além do exigido no ponto 7.1.1.1. Devem estar disponíveis valores TDeg50 e TDeg 90 fiáveis para, no mínimo, quatro solos diferentes.

O estudo deve ter uma duração de pelo menos 120 dias. O estudo deve ter uma maior duração se tal for necessário para definir a fração de formação cinética dos metabolitos e produtos de degradação ou de reação. Se mais de 90 % da substância ativa se tiver degradado antes do final do período de 120 dias, a duração do ensaio pode ser menor.

▼B

Para avaliar a influência da temperatura sobre a degradação, deve efetuar-se um cálculo com um fator Q10 adequado ou deve realizar-se um número adequado de estudos adicionais a uma determinada gama de temperaturas.

7.1.2.1.2. *Degradação aeróbia dos metabolitos e produtos da degradação e reação*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser apresentados valores de degradação aeróbia (TDeg50 e TDeg90) para um mínimo de três solos diferentes para metabolitos e produtos de degradação e de reação que se produzem no solo se uma das seguintes condições for cumprida:

a) correspondem a mais de 10 % da quantidade de substância ativa adicionada em qualquer altura durante os estudos;

b) correspondem a mais de 5 % da quantidade de substância ativa adicionada em, pelo menos, duas medições sequenciais;

c) a formação máxima não é alcançada no final do estudo mas representa, pelo menos, 5 % da substância ativa na medição final;

d) todos os metabolitos detetados nos estudos com lisímetros apresentam concentrações anuais médias que excedem a 0,1 µg/L nos lixiviados.

Não são necessários estudos sempre que possam ser determinados de forma fiável três valores TDeg50 e TDeg90 a partir dos resultados dos estudos de degradação em que a substância ativa seja aplicada como substância de ensaio.

Condições de ensaio

As condições de ensaio devem ser as indicadas na secção 7.1.2.1.1, exceto quando a substância ensaiada for o metabolito, o produto de degradação ou o produto de reação. Devem ser apresentados estudos de metabolitos, produtos de degradação e de reação sempre que estes forem necessários para obter valores TDeg50 e TDeg90 fiáveis para, pelo menos, três solos diferentes.

7.1.2.1.3. *Degradação anaeróbia da substância ativa*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Deve ser indicada a taxa de degradação anaeróbia da substância ativa quando seja necessário realizar um estudo anaeróbio de acordo com o ponto 7.1.1.2.

Condições de ensaio

Os valores de TDeg50 e TDeg90 anaeróbios para a substância ativa são necessários para as condições de ensaio descritas no ponto 7.1.1.2.

7.1.2.1.4. *Degradação anaeróbia dos metabolitos e produtos da degradação e reação*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser apresentados estudos de degradação anaeróbia para metabolitos e produtos de degradação e de reação presentes no solo se cumprirem uma das seguintes condições:

a) correspondem a mais de 10 % da quantidade de substância ativa adicionada em qualquer altura durante os estudos;

b) correspondem a mais de 5 % da quantidade de substância ativa adicionada em, pelo menos, duas medições sequenciais, se possível;

▼B

c) no final do estudo a formação máxima não foi ainda alcançada mas representa, pelo menos, 5 % da substância ativa na medição final, se possível.

O requerente pode contornar este requisito demonstrando que os valores TDeg50 para os metabolitos e produtos de degradação e reação podem ser determinados de forma fiável a partir dos resultados dos estudos de degradação anaeróbia com a substância ativa.

Condições de ensaio

Devem ser apresentados estudos de metabolitos, produtos de degradação e de reação para um solo nas condições de ensaio mencionadas no ponto 7.1.1.2.

7.1.2.2. Ensaios de campo

7.1.2.2.1. *Estudos de dissipação no solo*

Os estudos de dissipação no solo devem fornecer estimativas do tempo necessário para a dissipação de 50 % e 90 % ($TDis50_c$ e $TDis90_c$) e, se possível, o tempo necessário para a degradação de 50 % e 90 % ($TDeg50_c$ e $TDeg90_c$) da substância ativa em condições de campo. Se necessário, devem ser apresentadas informações sobre os metabolitos e produtos de degradação e de reação.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Estes estudos devem ser realizados para a substância ativa, seus metabolitos e produtos de degradação ou de reação se for cumprida uma das seguintes condições:

a) $TDeg50_{lab}$ para a substância ativa, $TDeg50_{lab}$ ou $TDis50_{lab}$ para metabolitos, produtos de degradação e de reação num ou mais solos determinado a 20 °C e com um teor de humidade do solo correspondente a um valor pF de 2 (pressão de sucção), for superior a 60 dias; ou

b) $TDeg90_{lab}$ para a substância ativa, $TDeg90_{lab}$ ou $TDis90_{lab}$ para metabolitos, produtos de degradação e de reação num ou mais solos determinado a 20 °C e com um teor de humidade do solo correspondente a um valor pF de 2 (pressão de sucção), for superior a 200 dias.

No entanto, sempre que os produtos fitofarmacêuticos que contenham a substância ativa se destinarem a ser utilizados em condições climatéricas frias, devem ser realizados estudos se for cumprida uma das seguintes condições:

a) $TDeg50_{lab}$ para a substância ativa, $TDeg50_{lab}$ ou $TDis50_{lab}$ para metabolitos, produtos de degradação e de reação determinado a 10 °C e com um teor de humidade do solo correspondente a um valor pF de 2 (pressão de sucção), for superior a 90 dias; ou

b) $TDeg90_{lab}$ para a substância ativa, $TDeg90_{lab}$ ou $TDis90_{lab}$ para metabolitos, produtos de degradação e de reação num ou em vários solos determinado a 10 °C e com um teor de humidade do solo correspondente a um valor pF de 2 (pressão de sucção), for superior a 300 dias.

Se durante os estudos de campo os metabolitos e os produtos de degradação e de reação presentes em estudos laboratoriais forem inferiores ao LOQ mais baixo tecnicamente viável, o qual não deve exceder um equivalente a 5 % (base molar) da concentração nominal do ingrediente ativo aplicado, não é necessário apresentar informações adicionais sobre o destino e o comportamento destes compostos. Nestes casos, deve ser apresentada uma justificação cientificamente válida para qualquer discrepância entre o aparecimento dos metabolitos em laboratório e no campo.

▼B

Condições de ensaio

Devem ser prosseguidos os estudos individuais numa gama representativa de solos (normalmente, pelo menos quatro tipos diferentes em locais geográficos diferentes) até que, pelo menos, 90 % da quantidade aplicada tenham sido dissipados do solo ou tenham sido transformados em substâncias que não sejam o objeto da investigação.

7.1.2.2.2. *Estudos de acumulação no solo*

Os estudos de acumulação no solo devem fornecer informações suficientes para avaliar a possibilidade de acumulação de resíduos da substância ativa e de metabolitos e produtos de degradação e de reação. Os estudos de acumulação no solo devem fornecer estimativas do tempo necessário para a dissipação de 50 % e 90 % ($TDis50_c$ e $TDis90_c$) e, se possível, devem apresentar estimativas do tempo necessário para a degradação de 50 % e 90 % ($TDeg50_c$ e $TDeg90_c$) da substância ativa em condições de campo.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Quando, com base nos estudos de dissipação no solo, se determine que o valor $TDis90_c$ num ou mais solos é superior a um ano e se estiver prevista a aplicação repetida, quer durante o mesmo período vegetativo quer nos anos seguintes, devem ser investigados a possibilidade de acumulação de resíduos no solo e o teor em que é alcançada a concentração estacionária, exceto se forem fornecidas informações fiáveis através de um modelo de cálculo ou de outra avaliação adequada.

Condições de ensaio

Devem ser realizados ensaios de campo a longo prazo em, pelo menos, dois tipos de solo relevantes em dois locais geográficos diferentes e envolvendo aplicações múltiplas.

Na ausência de orientações na lista referida no ponto 6 da introdução, o tipo e as condições do estudo a efetuar devem ser discutidos com as autoridades nacionais competentes.

7.1.3. *Adsorção e dessorção no solo*

7.1.3.1. Adsorção e dessorção

As informações fornecidas, juntamente com outros dados pertinentes, devem ser suficientes para permitir determinar o coeficiente de adsorção da substância ativa e dos seus metabolitos e produtos de degradação e de reação.

7.1.3.1.1. *Adsorção e dessorção da substância ativa*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os estudos de adsorção e dessorção da substância ativa devem ser indicados, exceto quando a natureza e o modo de utilização dos produtos fitofarmacêuticos que contêm a substância ativa excluam a contaminação do solo, como no caso da utilização no interior em produtos armazenados ou de tratamentos para a cicatrização de árvores aplicados com pincel.

Condições de ensaio

Devem ser apresentados estudos com a substância ativa em, pelo menos, quatro tipos de solo.

Sempre que não puder ser aplicado o método do reator descontínuo devido a uma degradação rápida, podem considerar-se como possível alternativas métodos como os estudos com tempos de equilíbrio curtos, a QSPR (Relação Quantitativa Estrutura-Propriedade) ou a HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Resolução). Sempre que o método do reator descontínuo não puder ser aplicado devido a uma fraca adsorção, os estudos de lixiviação em coluna (ver ponto 7.1.4.1) podem ser considerados como uma alternativa.

▼B

7.1.3.1.2. *Adsorção e dessorção dos metabolitos e produtos da degradação e reação*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os estudos de adsorção e dessorção devem ser apresentados para todos os metabolitos, produtos de degradação e de reação para os quais nos estudos de degradação no solo for cumprida uma das seguintes condições:

a) correspondem a mais de 10 % da quantidade de substância ativa adicionada em qualquer altura durante os estudos;

b) correspondem a mais de 5 % da quantidade de substância ativa adicionada em, pelo menos, duas medições sequenciais;

c) a formação máxima não é alcançada no final do estudo mas representa, pelo menos, 5 % da substância ativa na medição final;

d) todos os metabolitos detetados nos estudos com lisímetros apresentam concentrações anuais médias que excedem 0,1 μg/L nos lixiviados.

Condições de ensaio

Devem ser apresentados estudos com metabolitos e produtos de degradação e de reação para, pelo menos três solos.

Sempre que não puder ser aplicado o método do reator descontínuo devido a uma degradação rápida, podem considerar-se como alternativa métodos como os estudos com tempos de equilíbrio curtos, a QSPR ou a HPLC. Sempre que o método do reator descontínuo não puder ser aplicado devido a uma fraca adsorção, os estudos de lixiviação em coluna (ver ponto 7.1.4.1) podem ser considerados como uma alternativa.

7.1.3.2. Sorção a prazo

Podem ser fornecidas informações sobre sorção a prazo como uma opção de fase mais avançada.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A necessidade de realizar um estudo de sorção a prazo deve ser debatida com as autoridades nacionais competentes.

Condições de ensaio

Na ausência de orientações na lista referida no ponto 6 da introdução, o tipo e as condições do estudo a efetuar devem ser discutidos com as autoridades nacionais competentes. Deve também ser considerada a influência na taxa de degradação. Os dados relativos à sorção a prazo devem ser compatíveis com o modelo no qual aqueles valores serão utilizados.

7.1.4. *Mobilidade no solo*

7.1.4.1. Estudos de lixiviação em coluna

7.1.4.1.1. *Lixiviação em coluna da substância ativa*

Os estudos de lixiviação em coluna devem fornecer dados suficientes para avaliar a mobilidade e o potencial de lixiviação da substância ativa.

▼B

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser realizados estudos em, pelo menos, quatro tipos de solo sempre que os estudos de adsorção e dessorção previstos no ponto 7.1.2 não permitam obter valores fiáveis do coeficiente de adsorção devido a uma adsorção fraca (por exemplo, Koc < 25 L/Kg).

7.1.4.1.2. *Lixiviação em coluna dos metabolitos e produtos da degradação e reação*

O ensaio deve fornecer dados suficientes para avaliar a mobilidade e o potencial de lixiviação dos metabolitos e produtos de degradação e de reação.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser realizados estudos em, pelo menos, três tipos de solo sempre que os estudos de adsorção e dessorção previstos no ponto 7.1.2 não permitam obter valores fiáveis do coeficiente de adsorção devido a uma adsorção fraca (por exemplo, Koc < 25 L/Kg).

7.1.4.2. Estudos em lisímetros

Devem ser realizados, sempre que necessário, estudos em lisímetros para fornecer informações sobre:

— a mobilidade no solo,

— o potencial de lixiviação para as águas subterrâneas,

— o potencial de distribuição no solo.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A decisão de efetuar ou não estudos em lisímetros, como um estudo experimental de exterior no âmbito de um esquema por fases de avaliação da lixiviação, deve ter em conta os resultados dos estudos de degradação e de outros estudos de mobilidade e as concentrações ambientais previstas nas águas subterrâneas (PEC_{GW}), calculadas em conformidade com os requisitos da parte A, secção 9, do anexo do Regulamento (UE) n.º 284/2013. O tipo e as condições do estudo a realizar devem ser debatidos com as autoridades nacionais competentes.

Condições de ensaio

Os estudos devem referir-se à situação realista mais desfavorável possível e à duração necessária para a observação da potencial lixiviação, atendendo ao tipo de solo, às condições climatéricas, à taxa de aplicação e à frequência e período de aplicação.

É conveniente proceder a análises, com intervalos adequados, da água percolada das colunas de solo, devendo determinar-se a quantidade de resíduos no material vegetal aquando da colheita. Os resíduos no perfil do solo em, pelo menos, cinco camadas devem ser determinados no termo do trabalho experimental. É conveniente evitar a recolha intermédia de amostras, dado que a remoção de vegetais (exceto no caso da colheita segundo as práticas agrícolas normais) e de frações de solo influencia o processo de lixiviação.

Devem registar-se a intervalos regulares a precipitação e a temperatura do solo e do ar (pelo menos semanalmente).

A profundidade dos lisímetros deve ser de, pelo menos, 100 cm. A estrutura do solo deve permanecer intacta. As temperaturas do solo devem ser semelhantes às apresentadas no campo. Quando necessário,

▼B

deve proceder-se a uma irrigação suplementar para garantir um crescimento ótimo dos vegetais e assegurar que a quantidade de água percolada é idêntica à das regiões para as quais é pedida a autorização. Se durante o estudo o solo for objeto de uma mobilização por motivos agrícolas, esta não deve corresponder a uma profundidade superior a 25 cm.

7.1.4.3. Estudos de lixiviação no campo

Devem ser realizados, sempre que necessário, estudos de lixiviação no campo para fornecer informações sobre:

— a mobilidade no solo,

— o potencial de lixiviação para as águas subterrâneas,

— o potencial de distribuição no solo.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A decisão de efetuar ou não estudos de lixiviação no campo, como um estudo experimental de exterior no âmbito de um esquema por fases de avaliação da lixiviação, deve ter em conta os resultados dos estudos de degradação e de outros estudos de mobilidade e as concentrações ambientais previstas nas águas subterrâneas (PEC_{GW}), calculadas em conformidade com os requisitos da parte A, secção 9, do anexo do Regulamento (UE) n.º 284/2013. O tipo e as condições do estudo a realizar devem ser debatidos com as autoridades nacionais competentes.

Condições de ensaio

Os estudos devem referir-se à situação realista mais desfavorável possível, atendendo ao tipo de solo, às condições climatéricas, à taxa de aplicação e à frequência e período de aplicação.

A água deve ser analisada a intervalos adequados. Os resíduos no perfil do solo em, pelo menos, cinco camadas devem ser determinados no termo do trabalho experimental. É conveniente evitar a recolha intermédia de amostras de material vegetal e do solo (exceto no caso da colheita segundo práticas agrícolas normais), dado que a remoção de vegetais e de solo influencia o processo de lixiviação.

Devem registar-se a intervalos regulares a precipitação e a temperatura do solo e do ar (pelo menos semanalmente).

Devem ser fornecidas informações sobre o nível da toalha freática nos campos submetidos a ensaio. Dependendo da conceção experimental, deve efetuar-se uma caracterização hidrológica pormenorizada do campo submetido a ensaio. Se se observar o fendilhamento do solo durante o estudo, tal deve ser descrito pormenorizadamente.

Deve ser dada atenção ao número e à localização dos dispositivos de recolha de água. A colocação destes dispositivos no solo não deve dar origem a vias de percolação preferenciais.

7.2. **Destino e comportamento na água e no sedimento**

As informações fornecidas, juntamente com as informações sobre um ou mais produtos fitofarmacêuticos que contenham a substância ativa e outras informações pertinentes, devem ser suficientes para determinar ou estimar:

▼B

a) a persistência nos sistemas hídricos (sedimento e água, incluindo partículas em suspensão);

b) a amplitude dos riscos para os organismos que vivem na água e nos sedimentos;

c) o potencial de contaminação das águas superficiais e das águas subterrâneas.

7.2.1. *Via e taxa de degradação em sistemas aquáticos (degradação química e fotoquímica)*

Os dados e as informações fornecidos, juntamente com outros dados e informações pertinentes, devem ser suficientes para:

a) identificar a importância relativa dos tipos de processos envolvidos (balanço entre a degradação química e a degradação biológica);

b) quando possível, identificar os componentes individuais presentes;

c) estabelecer as proporções relativas dos componentes presentes e a sua distribuição entre a água, incluindo as partículas em suspensão, e o sedimento; e

d) definir o resíduo em causa ao qual as espécies não visadas estão ou podem estar expostas.

7.2.1.1. Degradação hidrolítica

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A taxa de hidrólise das substâncias ativas purificadas deve ser determinada e comunicada a 20 °C ou 25 °C. Devem também ser realizados estudos sobre a degradação hidrolítica relativamente aos produtos de degradação e reação que correspondam, em qualquer momento, a mais de 10 % da quantidade de substância ativa adicionada no estudo de hidrólise, exceto se o ensaio realizado com a substância ativa fornecer informação suficientes sobre a sua degradação. Não são necessárias informações adicionais sobre a hidrólise se os produtos de degradação forem considerados como estáveis em água.

Condições de ensaio

Deve ser determinada e comunicada a taxa de hidrólise, a 20 °C ou 25 °C, para valores de pH 4, 7 e 9 em condições de esterilidade na ausência de luz. No caso das substâncias ativas estáveis ou com uma taxa de hidrólise reduzida a 20-25 °C, essa taxa deve ser determinada a 50°C, ou a outra temperatura acima de 50 °C. Se se observar degradação a 50 °C ou mais, a taxa de degradação deve ser determinada a, pelo menos, três outras temperaturas, e deve ser construído um gráfico de Arrhenius de forma a permitir fazer uma estimativa da taxa de hidrólise a 20 °C e a 25 °C. A identidade dos produtos de hidrólise formados e as constantes de velocidade observadas devem ser comunicadas. Os valores TDeg 50 devem ser comunicados para 20 °C ou 25 °C.

7.2.1.2. Degradação fotoquímica direta

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Relativamente aos compostos com um coeficiente de absorção molar decimal (ε) > 10 L x $mol^{-1} \times cm^{-1}$ a um comprimento de onda (λ) ≥ 295 nm, deve ser determinada e comunicada a fototransformação direta das substâncias ativas purificadas, exceto se o requerente demonstrar que não ocorrerá contaminação das águas subterrâneas.

▼B

Devem ser também realizados estudos de degradação fotoquímica direta relativamente aos metabolitos e aos produtos de degradação e de reação que representem, em qualquer momento, mais de 10 % da quantidade de substância ativa adicionada no estudo de fotólise, exceto se o ensaio realizado com a substância ativa fornecer informações suficientes sobre a sua degradação.

Não são necessárias informações adicionais sobre a fotólise se os produtos de degradação forem considerados como estáveis em condições fotolíticas.

Condições de ensaio

Deve ser determinada e comunicada a fototransformação direta em água tamponada purificada (por exemplo, água destilada) utilizando luz artificial em condições de esterilidade, se necessário com recurso a um agente de solubilização. Na primeira etapa teórica, deve ser estimada uma taxa máxima possível de fotólise com base no coeficiente de extinção molar da substância ativa. Se a fotólise for considerada como uma via potencialmente significativa de degradação, devem realizar-se experiências de fotólise para determinar o intervalo (fase 2). Devem determinar-se o rendimento quântico e a via/taxa de fotólise direta (fases 3 e 4) para substâncias ativas cuja fase 2 revele uma fotólise significativa. Devem comunicar-se a identidade dos produtos de degradação formados que, em qualquer momento do estudo, representem mais de 10 % da substância de ensaio aplicada, um balanço de massa que corresponda a pelo menos 90 % da radioatividade aplicada, bem como a semivida fotoquímica (TD50).

7.2.1.3. Degradação fotoquímica indireta

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Podem ser apresentados estudos de degradação fotoquímica indireta sempre que outros dados disponíveis indiquem que a via e a taxa de degradação na fase aquosa podem ser significativamente influenciadas pela fotodegradação indireta.

Condições de ensaio

Os estudos devem ser efetuados num sistema aquoso contendo compostos orgânicos (substâncias húmicas) e inorgânicos (sais) numa proporção que seja típica das águas superficiais naturais.

7.2.2. *Via e taxa de degradação biológica em sistemas aquáticos*

7.2.2.1. «Biodegradabilidade imediata»

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Deve ser realizado um ensaio de biodegradabilidade imediata. Se este ensaio não for apresentado, considerar-se-á por defeito que a substância ativa não é imediatamente biodegradável.

7.2.2.2. Mineralização aeróbia nas águas superficiais

Os dados e as informações fornecidos, juntamente com outros dados e informações pertinentes, devem ser suficientes para:

a) identificar os componentes individuais presentes, que correspondem, em qualquer fase do estudo, a mais de 10 % da quantidade de substância ativa adicionada, incluindo, quando possível, os resíduos não extraíveis;

b) identificar, quando possível, componentes individuais presentes que correspondem a mais de 5 % da quantidade de substância ativa adicionada em, pelo menos, duas medições sequenciais;

▼B

c) identificar, quando possível, os componentes individuais (> 5%) para os quais, no final do estudo, a formação máxima não tiver sido ainda alcançada;

d) identificar ou caracterizar, quando possível, outros componentes individuais;

e) estabelecer, quando pertinente, as proporções relativas dos componentes presentes (balanço de massa); e

f) definir, sempre que pertinente, o resíduo em causa no sedimento ao qual as espécies não visadas estão ou podem estar expostas.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os estudos de mineralização aeróbia nas águas superficiais devem ser comunicados, exceto se o requerente demonstrar que não ocorrerá a contaminação das águas abertas (águas doces, estuarinas e marinhas).

Condições de ensaio

Devem ser comunicadas a taxa e a via ou vias de degradação, quer para um sistema de ensaio «pelágico» quer para um sistema de «sedimento em suspensão». Sempre que relevante, devem ser utilizados sistemas de ensaio adicionais, que difiram em termos de teor de carbono orgânico, textura ou pH.

Os resultados obtidos devem ser apresentados sob a forma de gráficos esquemáticos que indiquem as vias envolvidas, e de folhas de balanço que indiquem a distribuição do marcador radioativo na água e, sempre que relevante, no sedimento, em função do tempo, entre:

a) substância ativa;

b) CO_2;

c) compostos voláteis, excluindo o CO_2; e

d) produtos de transformação individuais identificados.

A duração do estudo não deve ultrapassar 60 dias, salvo se se aplicar o procedimento semicontínuo com a renovação periódica da suspensão de ensaio. O período dos ensaios em descontínuo poderá, no entanto, ser alargado até um máximo de 90 dias, se a degradação da substância em estudo tiver tido início durante os primeiros 60 dias.

7.2.2.3. Estudo água/sedimento

As informações fornecidas, juntamente com outras informações pertinentes, devem ser suficientes para:

a) identificar os componentes individuais presentes, que correspondem, em qualquer fase do estudo, a mais de 10 % da quantidade de substância ativa adicionada, incluindo, quando possível, os resíduos não extraíveis;

b) identificar, quando possível, componentes individuais presentes que correspondem a mais de 5 % da quantidade de substância ativa adicionada em, pelo menos, duas medições sequenciais;

c) identificar, quando possível, os componentes individuais (> 5%) para os quais, no final do estudo, a formação máxima não tiver sido ainda alcançada;

▼B

d) identificar ou caracterizar também, quando possível, outros componentes individuais presentes;

e) estabelecer as proporções relativas dos componentes (balanço de massa); e

f) definir o resíduo em causa no sedimento ao qual as espécies não visadas estão ou podem estar expostas.

Sempre que seja feita referência aos resíduos não extraíveis, estes devem ser definidos como substâncias químicas com origem em substâncias ativas utilizadas em conformidade com boas práticas agrícolas que não podem ser extraídas através de métodos que não alterem significativamente a natureza química destes resíduos ou a natureza da matriz do sedimento. Considera-se que estes resíduos não extraíveis não incluem os fragmentos que, por transformação metabólica, conduzem a produtos naturais.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

O estudo água/sedimento deve ser comunicado, exceto se o requerente demonstrar que não ocorrerá a contaminação das águas superficiais.

Condições de ensaio

Devem ser comunicadas a via ou vias de degradação para dois sistemas água/sedimento. Os dois sedimentos selecionados devem diferir em termos de teor de carbono orgânico e textura e, sempre que relevante, em termos de pH.

Os resultados obtidos devem ser apresentados sob a forma de gráficos esquemáticos que indiquem as vias envolvidas, e de folhas de balanço que indiquem a distribuição do marcador radioativo na água e no sedimento, em função do tempo, entre:

a) substância ativa;

b) CO_2;

c) compostos voláteis, excluindo o CO_2;

d) produtos de transformação individuais identificados;

e) substâncias extraíveis não identificadas; e

f) resíduos no sedimento não extraíveis.

O estudo deve ter uma duração de pelo menos 100 dias. Deverá ter uma maior duração se tal se verificar necessário para definir a via de degradação e o padrão de distribuição água/sedimento da substância ativa e dos seus metabolitos e produtos de degradação e de reação. Se mais de 90 % da substância ativa se tiver degradado antes do final do período de 100 dias, a duração do estudo pode ser menor.

O padrão da degradação de metabolitos potencialmente relevantes que se encontram presentes no estudo água/sedimento deve ser definido por extensão do estudo para a substância ativa ou pela realização de um estudo separado para os metabolitos potencialmente relevantes.

7.2.2.4. Estudo água/sedimento irradiados

São aplicáveis as mesmas disposições gerais que as previstas no ponto 7.2.2.3.

▼B

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Se a degradação fotoquímica assumir uma importância particular, pode ser apresentado adicionalmente um estudo água/sedimento sob a influência de um regime de luz/escuridão.

Condições de ensaio

O tipo e as condições do estudo a realizar devem ser debatidos com as autoridades nacionais competentes.

7.2.3. *Degradação na zona saturada*

O tipo e as condições do estudo a realizar devem ser debatidos com as autoridades nacionais competentes.

7.3. **Destino e comportamento no ar**

7.3.1. *Via e taxa de degradação no ar*

Deve ser comunicada a pressão de vapor da substância ativa purificada, tal como previsto no ponto 2.2. Deve calcular-se e comunicar-se uma estimativa da semivida, nas camadas superiores da atmosfera, da substância ativa e de quaisquer metabolitos e produtos de degradação e de reação voláteis, formados no solo ou em sistemas aquáticos naturais.

Devem também ser efetuadas estimativas das semividas da substância ativa nas camadas superiores da atmosfera, sempre que estiverem disponíveis dados de monitorização que o permitam.

7.3.2. *Transporte através do ar*

O tipo e as condições do estudo a realizar devem ser debatidos com as autoridades nacionais competentes.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Podem ser comunicados dados de experiências em espaços confinados, caso se ultrapassar o ponto de volatilização, Vp = 10^{-5} Pa (vegetais) ou 10^{-4} Pa (solo) a uma temperatura de 20 °C, e forem necessárias medidas de atenuação (do arrastamento).

Se necessário, podem ser apresentadas experiências para determinar a deposição decorrente da volatilização.

As autoridades nacionais competentes devem ser consultadas para decidir se esta informação é necessária.

7.3.3. *Efeitos locais e globais*

Para substâncias aplicadas em grandes quantidades, devem ser considerados os seguintes efeitos:

— Potencial de aquecimento global (PAG),

— Potencial de empobrecimento do ozono (PEO),

— Potencial de criação de ozono fotoquímico (PCOF),

— Acumulação na troposfera,

— Potencial de acidificação (PA),

— Potencial de eutrofização (PE).

▼B

7.4. **Definição do resíduo**

7.4.1. *Definição do resíduo para efeitos de avaliação do risco*

A definição do resíduo relevante para a avaliação do risco de cada compartimento deve ser elaborada de forma a incluir todos os componentes (substância ativa, metabolitos, produtos de degradação e de reação) que foram identificados segundo os critérios referidos na presente secção.

Deve ser tida em consideração a composição química dos resíduos presentes no solo, nas águas subterrâneas, nas águas superficiais (águas doces, estuarinas e marinhas), no sedimento e no ar, resultantes da utilização, ou da utilização proposta, de um produto fitofarmacêutico que contenha a substância ativa.

7.4.2. *Definição do resíduo para efeitos de monitorização*

Ao considerar os resultados dos ensaios toxicológicos e ecotoxicológicos, o resíduo a submeter a monitorização deve ser definido por forma a incluir os componentes da definição do resíduo para efeitos da avaliação do risco, que sejam considerados relevantes ao avaliar os resultados dos referidos ensaios.

7.5. **Dados de monitorização**

Devem ser comunicados os dados de monitorização disponíveis respeitantes ao destino e ao comportamento da substância ativa e dos metabolitos e produtos de degradação e de reação relevantes no solo, nas águas subterrâneas, nas águas superficiais, no sedimento e no ar.

SECÇÃO 8

Estudos ecotoxicológicos

Introdução

1. Devem ser relatados todos os dados biológicos e informações disponíveis importantes para a avaliação do perfil ecotoxicológico da substância ativa. Devem incluir-se todos os efeitos potencialmente nocivos apurados ao longo das investigações ecotoxicológicas. Sempre que exigido pelas autoridades nacionais competentes, devem ser realizados e comunicados estudos adicionais necessários para investigar os mecanismos provavelmente envolvidos e para avaliar a significância destes efeitos.

2. A avaliação ecotoxicológica deve ser baseada no risco que a substância ativa proposta utilizada num produto fitofarmacêutico representa para organismos não visados. Ao efetuar a avaliação do risco, a toxicidade deve ser comparada com a exposição. A designação geral para o resultado desta comparação é o «quociente de risco» (QR). De salientar que o QR pode ser expresso de várias formas, por exemplo, rácio toxicidade:exposição (TER) e como quociente de perigo (QP). O requerente deve ter em conta as informações das secções 2, 5, 6, 7 e 8.

3. Pode ser necessário realizar estudos separados para os metabolitos, produtos de degradação e de reação derivados da substância ativa quando os organismos não visados forem suscetíveis de ser expostos e quando os seus efeitos não possam ser avaliados através dos resultados disponíveis relativos à substância ativa. Antes da realização destes estudos, o requerente deve ter em conta as informações das secções 5, 6 e 7.

Os estudos realizados devem permitir a classificação dos metabolitos, produtos de degradação e de reação como significativos ou não e refletir a natureza e a extensão dos efeitos cuja ocorrência é considerada provável.

▼B

4. No caso de determinados tipos de estudo, a utilização de um produto fitofarmacêutico representativo em vez da substância ativa técnica pode ser mais adequada, por exemplo, para os ensaios em artrópodes, abelhas, reprodução de minhocas, microflora do solo e vegetais terrestres não visados. No caso de determinados tipos de produtos fitofarmacêuticos (por exemplo, suspensão encapsulada), os ensaio com o produto fitofarmacêutico é mais indicado do que os ensaios com a substância ativa quando estes organismos forem expostos ao próprio produto fitofarmacêutico. No caso dos produtos fitofarmacêuticos para os quais se prevê sempre a utilização da substância ativa juntamente com um fitoprotetor e/ou agente sinergético e/ou em conjunto com outras substâncias ativas, devem ser utilizados os produtos fitofarmacêuticos que contenham estas substâncias adicionais.

5. Deve ser considerado o impacto da substância ativa na biodiversidade e no ecossistema, incluindo efeitos indiretos potenciais através da alteração da cadeia alimentar.

6. Para as orientações que permitem que o estudo seja concebido para determinar a concentração efetiva (CE_x), o estudo deve ser efetuado por forma a determinar uma CE_{10}, uma CE_{20} e uma CE_{50}, sempre que necessário, e intervalos de confiança correspondente de 95 %. Caso se utilize uma abordagem CE_x, deve ainda assim ser determinada uma concentração sem efeitos observáveis (CSEO).

   Os estudos aceitáveis existentes que foram concebidos para estabelecer uma CSEO não devem ser repetidos. Deve ser realizada uma avaliação do poder estatístico da CSEO derivada dos referidos estudos.

7. Devem ser utilizados todos os dados de toxicidade aquática ao elaborar uma proposta de normas de qualidade ambiental (NQA relativa à média anual e NQA relativa à concentração máxima admitida). A metodologia para o cálculo destes parâmetros é referida nas «Orientações técnicas para o estabelecimento de normas de qualidade ambiental» ([1]) da Diretiva-Quadro «Água» 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho ([2]).

8. A fim de facilitar a avaliação da significância dos resultados obtidos nos ensaios, incluindo a estimativa da toxicidade intrínseca e dos fatores que afetam a toxicidade, deve ser utilizada, sempre que possível, a mesma estirpe (ou origem registada) de cada espécie relevante nos vários ensaios de toxicidade especificados.

9. Devem ser concebidos os estudos mais avançados e os dados devem ser analisados através dos métodos estatísticos adequados. Os métodos estatísticos devem ser comunicados na íntegra. Sempre que adequado e necessário, os estudos mais avançados devem ter o apoio da análise química para verificar que a exposição ocorreu a um nível adequado.

10. Na pendência da validação e da adoção de novos estudos e do novo regime de avaliação do risco, devem ser utilizados na avaliação do risco os protocolos existentes para analisar o risco agudo e o risco crónico para as abelhas, incluindo os referentes à sobrevivência e desenvolvimento da colónia, e para identificar e medir os efeitos subletais pertinentes.

8.1. **Efeitos em aves e outros vertebrados terrestres**

Em todos os ensaios de alimentação de aves e mamíferos, deve ser indicada a dose média atingida, incluindo, sempre que possível, a dose em mg de substância/kg de peso corporal. Sempre que a administração se processe através da alimentação, a substância ativa deve ser distribuída de maneira uniforme nos alimentos.

([1]) Comunidades Europeias (2001) Publicação ISBN: 978-92-79-16228-2.
([2]) JO L 327 de 22.12.2000, p. 1.

▼B

8.1.1. *Efeitos em aves*

8.1.1.1. Toxicidade aguda por via oral para aves

A toxicidade aguda por via oral da substância ativa para as aves deve ser determinada.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os efeitos da substância ativa para as aves devem ser investigados exceto se a substância fizer parte de produtos fitofarmacêuticos utilizados, em espaços fechados e em tratamentos de cicatrização, por exemplo, em que as aves não serão expostas nem de forma direta nem de forma secundária.

Condições de ensaio

Deve ser apresentado um estudo que determine a toxicidade aguda oral (DL_{50}) da substância ativa. Quando disponível, o estudo deve ser realizado com espécies de codorniz [a codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) ou a codorniz «Bobwhite» (*Colinus virginianus*)], visto que a regurgitação é rara nestas espécies. O estudo deve fornecer, quando possível, os valores DL_{50}. Deve comunicar-se a dose limiar letal, a evolução temporal da resposta e da recuperação e os valores DL_{10} e DL_{20}, juntamente com o nível sem efeitos adversos observáveis (NSEAO) e os resultados patológicos relevantes do exame macroscópico. Sempre que os valores CE_{10}, e CE_{20} não possam ser estimados, deve ser apresentada uma justificação. A conceção do estudo deve ser otimizada para alcançar uma DL_{50} exata.

A dose mais elevada utilizada nos ensaios não deve exceder 2 000 mg de substância/kg de peso corporal podendo, no entanto, ser necessárias doses mais elevadas dependendo dos níveis previstos de exposição no campo de acordo com a utilização prevista do composto.

8.1.1.2. Toxicidade alimentar a curto prazo para aves

Deve ser apresentado um estudo que determine a toxicidade alimentar a curto prazo. Os valores CL_{50}, a concentração limiar letal (CLL), quando possível, valores CSEO, a evolução temporal da resposta e da recuperação e os resultados patológicos do exame macroscópico devem ser comunicados neste estudo. Os valores CL_{50} e CSEO devem ser convertidos em dose diária alimentar (DL_{50}), expressa em mg de substância/kg de peso corporal/dia e o NSEAO expresso em mg de substância/kg de peso corporal/dia.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Apenas será necessário um estudo de toxicidade alimentar (cinco dias) da substância ativa para as aves quando o modo de ação ou os resultados dos estudos com mamíferos indicarem a possibilidade de a DL_{50} alimentar, medida pelo estudo de toxicidade alimentar a curto prazo, ser inferior à DL_{50} com base num estudo de toxicidade aguda por via oral. O ensaios de toxicidade alimentar de curto prazo não deve ser realizado para qualquer outro fim que não a determinação da toxicidade intrínseca através da exposição alimentar, exceto se for apresentada uma justificação da necessidade da sua realização.

Condições de ensaio

As espécies ensaiadas devem ser as mesmas que as ensaiadas nos termos do ponto 8.1.1.1.

8.1.1.3. Toxicidade subcrónica e reprodutiva para aves

Deve ser apresentado um estudo que determine a toxicidade subcrónica e reprodutiva da substância ativa para as aves. Devem ser comunicados os valores CE_{10} e CE_{20}. Quando estes valores não puderem ser estimados, deve ser apresentada uma explicação juntamente com a CSEO expressa em mg de substância/kg de peso corporal/dia.

▼B

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Deve ser pesquisada a toxicidade subcrónica e os efeitos na reprodução da substância ativa em aves, exceto se o requerente demonstrar que não é provável a ocorrência de exposição de adultos ou dos locais de nidificação durante a estação de reprodução. Esta justificação deve ser apoiada por informações que revelem a não ocorrência de exposição ou de efeitos retardados durante a estação de reprodução.

Condições de ensaio

O estudo deve ser realizado com as mesmas espécies que as ensaiadas nos termos do ponto 8.1.1.1.

8.1.2. *Efeitos em vertebrados terrestres, excluindo as aves*

As seguintes informações devem ser derivadas da avaliação toxicológica em mamíferos, com base nos estudos referidos na secção 5.

8.1.2.1. Toxicidade aguda por via oral para mamíferos

A toxicidade aguda por via oral da substância ativa para os mamíferos deve ser determinada, e a DL_{50} expressa em mg de substância/kg de peso corporal/dia.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os efeitos da substância ativa para os mamíferos devem ser investigados exceto se a substância fizer parte de produtos fitofarmacêuticos utilizados em espaços fechados e em tratamentos de cicatrização, por exemplo, em que os mamíferos não serão expostos nem de forma direta nem de forma secundária.

8.1.2.2. Toxicidade a longo prazo e reprodutiva para mamíferos

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Deve ser pesquisada a toxicidade reprodutiva da substância ativa para os mamíferos, exceto se o requerente demonstrar que não é provável a ocorrência de exposição de adultos durante a estação de reprodução. Esta justificação deve ser apoiada por informações que revelem a não ocorrência de exposição ou de efeitos retardados durante a estação de reprodução.

Deve ser comunicado o parâmetro toxicológico a longo prazo mais sensível ecotoxicologicamente relevante para os mamíferos (NSEAO), expresso em mg de substância/kg de peso corporal/dia. Os valores CE_{10} e CE_{20} devem ser comunicados juntamente com a CSEO expressa em mg de substância/kg de peso corporal/dia. Sempre que os valores CE_{10} e CE_{20} não possam ser estimados, deve ser apresentada uma justificação.

8.1.3. *Bioconcentração da substância ativa em presas de aves e mamíferos*

Para substâncias ativas com um log P_{oa}> 3, deve ser apresentada uma avaliação do risco derivado da bioconcentração da substância em presas de aves e mamíferos.

8.1.4. *Efeitos em vertebrados terrestres selvagens (aves, mamíferos, répteis e anfíbios)*

Devem ser apresentados e tidos em conta na avaliação do risco os dados disponíveis e pertinentes, incluindo dados de publicações relativos à substância em questão, no que se refere aos efeitos potenciais para as aves, os mamíferos, os répteis e os anfíbios (ver ponto 8.2.3).

▼B

8.1.5. *Propriedades perturbadoras do sistema endócrino*

Deve ter-se em conta se a substância ativa é potencialmente perturbadora do sistema endócrino de acordo com as orientações da União ou acordadas a nível internacional, o que poderá ser feito consultando a secção sobre a toxicologia para os mamíferos (ver secção 5). Além disso, devem ser tidas em consideração outras informações disponíveis sobre o perfil de toxicidade e o modo de ação. Se, em resultado desta avaliação, a substância ativa for identificada como potencialmente perturbadora do sistema endócrino, o tipo e as condições do estudo a efetuar devem ser discutidos com as autoridades nacionais competentes.

8.2. **Efeitos em organismos aquáticos**

Os relatórios dos ensaios referidos nos pontos 8.2.1, 8.2.4 e 8.2.6 devem ser apresentados para cada substância ativa e apoiados por dados analíticos sobre as concentrações da substância nos meios de ensaio.

Quando forem realizados estudos de toxicidade aquática com uma substância pouco solúvel, as concentrações limite inferiores a 100 mg de substância/L podem ser aceitáveis, devendo, no entanto, evitar-se a precipitação da substância no meio de ensaio e utilizar-se, quando adequado, um agente de solubilização, um solvente auxiliar ou um agente de dispersão. As autoridades nacionais competentes podem exigir ensaios com o produto fitofarmacêutico caso não se verifiquem efeitos biológicos no limite de solubilidade da substância ativa.

Os parâmetros de toxicidade (tais como os valores CL_{50}, CE_{10}, CE_{20}, CE_{50} e CSEO) devem ser calculados com base nas concentrações nominais ou médias/iniciais medidas.

8.2.1. *Toxicidade aguda em peixes*

Deve ser apresentado um estudo sobre a toxicidade aguda para os peixes (CL_{50}) e pormenores dos efeitos observados.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Deve ser realizado um ensaio na truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).

Condições de ensaio

Deve ser determinada a toxicidade aguda da substância ativa para os peixes. No sentido de minimizar os ensaios com peixes, deve considerar-se uma abordagem baseada em limiares para o ensaio da toxicidade aguda em peixes. Deve ser realizado um estudo do limite de toxicidade aguda em peixes com 100 mg de substância/L ou com uma concentração adequada selecionada a partir dos parâmetros aquáticos (pontos 8.2.4, 8.2.6 ou 8.2.7), após determinação da exposição-limiar. Quando se detetar mortalidade no ensaio de limite em peixes, deve ser realizado um estudo dose-resposta de toxicidade aguda nos peixes para determinar o valor CL_{50} a utilizar na avaliação do risco realizada de acordo com a análise do quociente de risco pertinente (ver ponto 2 da introdução da presente secção).

8.2.2. *Toxicidade a longo prazo e crónica para peixes*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Deve ser apresentado um estudo de toxicidade a longo prazo ou crónica em peixes para todas as substâncias ativas para as quais seja provável a exposição das águas superficiais e a substância seja considerada estável na água, ou seja, quando exista uma perda inferior a 90 % da substância original durante um período de 24 horas através de hidrólise (ver ponto 7.2.1.1). Nestas circunstâncias, deve ser apresentado um estudo sobre as primeiras fases da vida dos peixes. No entanto, se for apresentado um estudo sobre o ciclo de vida completo dos peixes, não é necessário apresentar um estudo sobre as primeiras fases.

▼B

8.2.2.1. Ensaios de toxicidade nas primeiras fases da vida dos peixes

O ensaio de toxicidade nas primeiras fases da vida dos peixes deve determinar os efeitos no desenvolvimento, crescimento e comportamento e os efeitos observados nas primeiras fases da vida dos peixes. Devem ser comunicados os valores CE_{10} e CE_{20}, juntamente com a CSEO. Sempre que os valores CE_{10} e CE_{20} não possam ser estimados, deve ser apresentada uma justificação.

8.2.2.2. Ensaio do ciclo de vida completo dos peixes

Um ensaio do ciclo de vida completo dos peixes deve fornecer informações sobre a reprodução da geração parental e a viabilidade da geração de descendentes. Devem ser comunicados os valores CE_{10} e CE_{20}, juntamente com a CSEO.

Para as substâncias ativas que não sejam consideradas como potencialmente perturbadoras do sistema endócrino, pode ser necessário um ensaio do ciclo de vida completo dos peixes, dependendo da persistência e do potencial de bioacumulação da substância.

Para as substâncias ativas que cumprem os critérios de triagem em ensaios de triagem em peixes ou relativamente às quais existem outras indicações de perturbação endócrina (ver ponto 8.2.3), o ensaio deve incluir os parâmetros adicionais adequados, devendo os mesmos ser debatidos com as autoridades nacionais competentes.

Condições de ensaio

Os estudos devem ser concebidos para refletir as preocupações identificadas em ensaios menos avançados, estudos de toxicologia em mamíferos e aves e outras informações. O regime de exposição deve ser selecionado em conformidade, tendo em conta as taxas de aplicação propostas.

8.2.2.3. Bioconcentração em peixes

O ensaio da bioconcentração em peixes deve fornecer os fatores de bioconcentração em estado estacionário, as constantes das taxas de absorção e de depuração, excreção incompleta, metabolitos formados nos peixes e, se disponíveis, informações sobre a acumulação em órgãos concretos.

Todos os dados devem ser apresentados com limites de confiança para cada substância de ensaio. Os fatores de bioconcentração devem ser expressos como uma função do peso total líquido e do teor lipídico do peixe.

Quando relevante, devem ter-se em consideração os dados fornecidos ao abrigo do ponto 6.2.5 ao abordar esta questão.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A bioconcentração da substância deve ser avaliada quando:

— o log P_{OW} é superior a 3 (ver ponto 2.7) ou há outras indicações de bioconcentração, e

— a substância é considerada estável, ou seja quando existe uma perda inferior a 90 % da substância original durante um período de 24 horas através de hidrólise (ver ponto 7.2.1.1).

8.2.3. *Propriedades perturbadoras do sistema endócrino*

Deve ter-se em conta se a substância ativa é potencialmente perturbadora do sistema endócrino em organismos aquáticos não visados

▼B

de acordo com as orientações da União ou acordadas a nível internacional. Além disso, devem ser tidas em consideração outras informações disponíveis sobre o perfil de toxicidade e o modo de ação. Se, em resultado desta avaliação, a substância ativa for identificada como potencialmente perturbadora do sistema endócrino, o tipo e as condições dos estudos a efetuar devem ser discutidos com as autoridades nacionais competentes.

8.2.4. *Toxicidade aguda em invertebrados aquáticos*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A toxicidade aguda deve ser determinada para uma espécie *Daphnia* (de preferência, *Daphnia magna*). Para substâncias ativas com um modo de ação inseticida ou que revelem atividade inseticida, deve ser submetida a ensaio uma segunda espécie, por exemplo, larvas de *Chironomid* ou camarões *Mysid* (*Americamysis bahia*).

8.2.4.1. Toxicidade aguda para *Daphnia magna*

Deve ser apresentado um ensaio para determinar a toxicidade aguda, às 24 e 48 horas, da substância ativa para a espécie *Daphnia magna*, expressa como a concentração efetiva mediana (CE_{50}) para provocar imobilização e, quando possível, a concentração mais elevada que não provoca imobilização.

Condições de ensaio

Devem submeter-se a ensaio concentrações até 100 mg de substância/L. Pode ser realizado um ensaio-limite com 100 mg de substância/L quando os resultados do ensaio de determinação do intervalo indicarem que não se preveem efeitos.

8.2.4.2. Toxicidade aguda para uma outra espécie de invertebrados aquáticos

Deve ser apresentado um ensaio para determinar a toxicidade aguda, às 24 e 48 horas, da substância ativa para uma outra espécie de invertebrados aquáticos, expressa como a concentração efetiva mediana (CE_{50}) para provocar imobilização e, quando possível, a concentração mais elevada que não provoca imobilização.

Condições de ensaio

Devem aplicar-se as condições previstas no ponto 8.2.4.1.

8.2.5. *Toxicidade a longo prazo e crónica para invertebrados aquáticos*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Deve ser apresentado um estudo de toxicidade a longo prazo ou crónica em invertebrados aquáticos para todas as substâncias ativas para as quais seja provável a exposição das águas superficiais e a substância seja considerada estável na água, ou seja, quando exista uma perda inferior a 90 % da substância original durante um período de 24 horas através de hidrólise (ver ponto 7.2.1.1).

Deve ser apresentado um estudo de toxicidade crónica numa espécie de invertebrados aquáticos. Se tiverem sido realizados ensaios de toxicidade aguda em duas espécies de invertebrados aquáticos, devem ser tidos em conta os parâmetros agudos (ver ponto 8.2.4) para determinar as espécies adequadas a serem submetidas a ensaio no estudo de toxicidade crónica.

Se a substância ativa for um regulador do crescimento de insetos, deve ser realizado um estudo adicional de toxicidade crónica utilizando uma espécie não crustácea como, por exemplo, *Chironomus spp*.

8.2.5.1. Toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento para *Daphnia magna*

O ensaio de toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento para *Daphnia magna* deve ter como objetivo medir os efeitos nocivos, tais como a imobilização e a perda de capacidade reprodutiva, e fornecer pormenores sobre os efeitos observados. Devem ser comunicados os valores

▼B

CE_{10} e CE_{20} juntamente com a CSEO. Sempre que os valores CE_{10} e CE_{20}, não possam ser estimados, deve ser apresentada uma justificação.

8.2.5.2. Toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento para uma outra espécie de invertebrados aquáticos

O ensaio de toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento para uma outra espécie de invertebrados aquáticos deve ter como objetivo medir os efeitos nocivos, tais como a imobilização e a perda de capacidade reprodutiva, e fornecer pormenores sobre os efeitos observados. Devem ser comunicados os valores CE_{10} e CE_{20}, juntamente com a CSEO. Sempre que os valores CE_{10} e CE_{20} não possam ser estimados, deve ser apresentada uma justificação.

8.2.5.3. Desenvolvimento e emergência na espécie *Chironomus riparius*

A substância ativa deve ser aplicada na água que cobre o sedimento e devem ser medidos os efeitos para a sobrevivência e o desenvolvimento de *Chironomus riparius*, incluindo efeitos para a emergência de adultos, no sentido de fornecer parâmetros para as substâncias que se considere interferir com as hormonas de muda dos insetos ou que tenham outros efeitos para o crescimento e desenvolvimento dos insetos. Devem ser comunicados os valores CE_{10} e CE_{20}, juntamente com a CSEO.

Condições de ensaio

As concentrações da substância ativa no sedimento e na água que o cobre devem ser medidas para definir os valores CE_{10}, CE_{20} e um CSEO. A substância ativa deve ser medida com a frequência suficiente para permitir o cálculo dos parâmetros do ensaio com base em concentrações nominais e em concentrações médias ponderadas no tempo.

8.2.5.4. Organismos dos sedimentos

Quando os estudos de destino ambiental indicarem ou previrem a acumulação de uma substância ativa no sedimento aquático, deve ser avaliado o impacto num organismo que viva nos sedimentos. Deve ser determinado o risco crónico para as espécies *Chironomus riparius* ou *Lumbriculus spp*. É possível recorrer espécies de ensaio adequadas alternativas, sempre que estejam disponíveis orientações reconhecidas. A substância ativa deve ser aplicada à água ou à fase sedimentária de um sistema de água e sedimento, devendo o ensaio ter em conta a principal via de exposição. O parâmetro principal do estudo deve ser apresentado em termos de mg de substância/kg de sedimento seco e em mg de substância/L de água, devendo os valores CE_{10} e CE_{20} ser comunicados juntamente com a CSEO.

Condições de ensaio

As concentrações da substância ativa no sedimento e na água que o cobre devem ser medidas para definir os valores CE_{10}, CE_{20} e uma CSEO.

8.2.6. *Efeitos sobre o crescimento das algas*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os ensaios devem ser realizados numa alga verde (por exemplo, *Pseudokirchneriella subcapitata*, sinónimo *Selenastrum capricornutum*).

Para substâncias ativas que apresentem uma atividade herbicida deve ser efetuado um teste numa segunda espécie pertencente a outro grupo taxonómico, por exemplo uma diatomácea como a *Navicula pelliculosa*.

Devem ser apresentados os valores CE_{10}, CE_{20}, CE_{50} e a CSEO correspondente.

▼B

8.2.6.1. Efeitos sobre o crescimento de algas verdes

Deve ser apresentado um ensaio que defina os valores CE_{10}, CE_{20}, CE_{50} para algas verdes e os valores CSEO correspondentes para a taxa de crescimento e o rendimento das algas, com base em medições da biomassa ou em variáveis de medição substitutas.

Condições de ensaio

Devem submeter-se a ensaio concentrações até 100 mg de substância/L. Pode ser realizado um ensaio-limite com 100 mg de substância/L quando os resultados do ensaio de determinação do intervalo indicarem que não se preveem quaisquer efeitos com concentrações inferiores.

8.2.6.2. Efeitos sobre o crescimento de uma outra espécie de algas

Deve ser apresentado um ensaio que defina os valores CE_{10}, CE_{20}, CE_{50} para outra espécie de algas e as CSEO correspondentes para a taxa de crescimento e o rendimento das algas, com base em medições da biomassa (ou em variáveis de medição substitutas).

Condições de ensaio

Devem aplicar-se as condições previstas no ponto 8.2.6.1.

8.2.7. *Efeitos sobre os macrófitos aquáticos*

Deve ser apresentado um ensaio que defina os valores CE_{10}, CE_{20}, CE_{50} e as CSEO correspondentes para a taxa de crescimento e o rendimento das espécies *Lemma*, com base em medições do número de frondes e, pelo menos, numa variável de medição adicional (peso seco, peso fresco ou superfície das frondes).

Para outras espécies de macrófitos aquáticos, o ensaio deve fornecer informações suficientes para avaliar o impacto em vegetais aquáticos e fornecer os valores CE_{10}, CE_{20}, CE_{50} e a CSEO correspondente, com base na medição dos parâmetros adequados da biomassa.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Deve ser realizado um ensaio laboratorial com espécies de *Lemma* no caso dos herbicidas e dos reguladores do crescimento vegetal e no caso de substâncias que segundo as informações apresentadas nos termos da parte A, ponto 8.6, do anexo do Regulamento (UE) n.º 284/2013), tenham atividade herbicida. As autoridades nacionais competentes podem exigir ensaios adicionais com outras espécies de macrófitos, dependendo do modo de ação da substância, ou quando os ensaios de eficácia ou com vegetais terrestres não visados indicarem claramente uma toxicidade mais elevada para as espécies vegetais dicotiledónias (por exemplo, inibidores das auxinas ou herbicidas para folhas largas) ou monocotiledónias (por exemplo, herbicidas para erva) (ver parte A, ponto 8.6, do presente anexo e parte A, ponto 10.6, do anexo do Regulamento (UE) n.º 284/2013).

Podem ser realizados ensaios adicionais sobre macrófitos aquáticos com dicotiledónias, tais como *Myriophyllum spicatum, Myriophyllum aquaticum*, ou com monocotiledónias, tal como a erva aquática *Glyceria maxima*, conforme adequado. A necessidade de realizar este estudo deve ser debatida com as autoridades nacionais competentes.

Condições de ensaio

Devem ser submetidas a ensaio concentrações até 100 mg de substância/L. Pode ser realizado um ensaio-limite com 100 mg de substância/L quando os resultados do ensaio de determinação do intervalo indicarem que não se preveem quaisquer efeitos.

▼B

8.2.8. *Outros ensaios em organismos aquáticos*

Podem ser realizados outros estudos com organismos aquáticos para melhor apurar o risco identificado, devendo os mesmos fornecer informações e dados suficientes para avaliar o impacto potencial em organismos aquáticos em condições de campo.

Os estudos realizados podem assumir a forma de ensaios com espécies adicionais, ensaios de exposição modificada ou estudos de microcosmo ou de mesocosmo.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A necessidade de realizar estes estudos deve ser debatida com as autoridades nacionais competentes.

Condições de ensaio

O tipo e as condições dos estudos a realizar devem ser debatidos com as autoridades nacionais competentes.

8.3. **Efeitos em artrópodes**

8.3.1. *Efeitos em abelhas*

Os efeitos para as abelhas devem ser analisados e o risco avaliado, incluindo o risco decorrente de resíduos da substância ativa ou dos seus metabolitos no néctar, pólen e água, incluindo gutação. Os relatórios mencionados nos pontos 8.3.1.1, 8.3.1.2 e 8.3.1.3 devem ser apresentados, exceto se os produtos fitofarmacêuticos que contêm a substância ativa se destinarem, exclusivamente, a utilização em situações em que não é provável a exposição das abelhas, nomeadamente:

a) armazenagem de géneros alimentícios em espaços fechados;

b) preparações não sistémicas para aplicação no solo, exceto grânulos;

c) tratamentos não sistémicos por imersão para culturas transplantadas e bolbos;

d) tratamentos de desinfeção e de cicatrização de feridas;

e) iscos rodenticidas não sistémicos;

f) utilização em estufas sem abelhas como polinizadores.

No que se refere ao tratamento de sementes, deve ter-se em consideração o risco de deslocação de poeiras durante a sementeira em sulcos da semente tratada. No que se refere aos grânulos e *pellets*, deve ter-se em consideração o risco de deslocação de poeiras durante a aplicação. Se uma substância ativa for sistémica e se destinar a ser utilizada em sementes, bolbos, raízes, aplicada diretamente no solo, através de água de irrigação ou aplicada diretamente à superfície ou no interior do vegetal, por exemplo, por pulverização ou injeção no caule, deve ser avaliado o risco para as abelhas que se alimentam nestes vegetais, incluindo o risco decorrente de resíduos do produto fitofarmacêutico no néctar, pólen e água, incluindo por gutação.

Sempre que seja possível uma exposição das abelhas, devem realizar-se ensaios para deteção da toxicidade aguda (oral e de contacto) e crónica, incluindo efeitos subletais.

Quando puder ocorrer uma exposição das abelhas aos resíduos no néctar, pólen ou água decorrentes das propriedades sistémicas da substância ativa e sempre que a toxicidade aguda por via oral for <100 μg/abelha ou se verifique uma toxicidade considerável para as

▼B

larvas, devem ser apresentadas as concentrações de resíduos nestas matrizes e a avaliação do risco deve basear-se numa comparação do parâmetro relevante com aquelas concentrações de resíduos. Caso esta comparação indique que não se pode excluir uma exposição a níveis tóxicos, os efeitos devem ser investigados com ensaios mais avançados.

8.3.1.1. Toxicidade aguda para as abelhas

Sempre que seja possível uma exposição das abelhas, devem realizar-se ensaios de toxicidade aguda oral e de contacto.

8.3.1.1.1. *Toxicidade aguda por via oral*

Deve ser apresentado um ensaio de toxicidade aguda por via oral que defina os valores DL_{50} agudos e a CSEO. Se observados, os efeitos subletais devem ser comunicados.

Condições de ensaio

O ensaio deve ser efetuado com a substância ativa. Os resultados devem ser apresentados em termos de µg de substância ativa/abelha.

8.3.1.1.2. *Toxicidade aguda por contacto*

Deve ser apresentado um ensaio de toxicidade aguda por contacto que defina os valores DL_{50} agudos e a CSEO. Se observados, os efeitos subletais devem ser comunicados.

Condições de ensaio

O ensaio deve ser efetuado com a substância ativa. Os resultados devem ser apresentados em termos de µg de substância ativa/abelha.

8.3.1.2. Toxicidade crónica para as abelhas

Deve ser apresentado um ensaio de toxicidade crónica para as abelhas que defina os valores CE_{10}, CE_{20}, CE_{50} e a CSEO. Sempre que a CE_{10}, CE_{20} e CE_{50} oral crónica não possa ser estimada, deve ser apresentada uma justificação. Se observados, os efeitos subletais devem ser comunicados.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

O teste deve ser realizado sempre que seja provável a exposição das abelhas.

Condições de ensaio

O ensaio deve ser efetuado com a substância ativa. Os resultados devem ser apresentados em termos de µg de substância ativa/abelha.

8.3.1.3. Efeitos no desenvolvimento das abelhas e outras fases da vida das abelhas

Deve ser realizado um ensaio na descendência das abelhas para determinar os efeitos sobre o desenvolvimento das abelhas e a atividade da descendência. O estudo com a descendência das abelhas deve fornecer dados suficientes para avaliar os eventuais riscos da substância ativa para as larvas de abelha.

O ensaio deve fornecer os valores CE_{10}, CE_{20} e CE_{50} para as abelhas adultas e, sempre que possível, para as larvas, juntamente com a CSEO. Sempre que os valores CE_{10}, CE_{20} e CE_{50} não possam ser estimados, deve ser apresentada uma justificação. Se observados, os efeitos subletais devem ser comunicados.

▼B

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

O teste deve ser realizado para substâncias ativas para as quais não possam ser excluídos efeitos subletais para o crescimento ou o desenvolvimento, exceto se o requerente demonstrar que não é possível que a descendência das abelhas seja exposta à substância ativa.

8.3.1.4. Efeitos subletais

Podem ser exigidos ensaios de investigação dos efeitos subletais, tais como efeitos comportamentais e reprodutivos, para as abelhas e, se aplicável, para as colónias.

8.3.2. *Efeitos em artrópodes não visados, excluindo as abelhas*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os efeitos nos artrópodes terrestres não visados devem ser investigados para todas as substâncias ativas, exceto quando os produtos fitofarmacêuticos que contenham a substância ativa se destinarem a utilização exclusiva em situações nas quais os artrópodes não visados não são expostos, tais como:

— armazenagem de géneros alimentícios em espaços fechados que impedem a exposição,

— tratamentos de desinfeção e de cicatrização de feridas,

— espaços fechados com iscos rodenticidas.

Devem ser sempre submetidas a ensaio duas espécies indicadoras, o afídeo parasitóide dos cereais *Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera: Braconidae) e o ácaro predador *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) O ensaio inicial deve ser realizado com recurso a placas de vidro e a mortalidade (e os efeitos para a reprodução, se avaliados) devem ser comunicados. Os ensaios devem determinar uma relação dose-resposta, e devem ser comunicados os parâmetros TAL_{50} [1], TAE_{50} [2] e CSEO para avaliação do risco para estas espécies em conformidade com a análise do quociente de risco pertinente. Se estes estudos permitirem evidenciar claramente efeitos nocivos, pode ser necessário efetuar estudos mais avançados (para mais pormenores, ver parte A, ponto 10.3, do anexo do Regulamento (UE) n.º 284/2013).

Para as substâncias ativas suspeitas de possuir um modo de ação especial (por exemplo, reguladores de crescimento de insetos, inibidores da alimentação de insetos), as autoridades nacionais competentes podem exigir ensaios adicionais envolvendo fases de vida sensíveis, vias especiais de ingestão ou outras alterações. Deve apresentar-se o motivo da seleção das espécies utilizadas no ensaio.

8.3.2.1. Efeitos sobre *Aphidius rhopalosiphi*

O ensaio deve fornecer dados suficientes para avaliar a toxicidade em termos de TAL_{50} e CSEO da substância ativa para *Aphidius rhopalosiphi*.

Condições de ensaio

O ensaio inicial deve ser realizado com recurso a placas de vidro.

[1] TAL_{50}, abreviatura de «Taxa de Aplicação Letal, 50 %», ou seja a dose de aplicação necessária para eliminar metade dos membros de uma população após uma duração especificada do ensaio.

[2] TAE_{50}, abreviatura de «Taxa de Aplicação com Efeito, 50 %», ou seja a dose de aplicação necessária para provocar um efeito em metade dos membros de uma população após uma duração especificada do ensaio.

▼B

8.3.2.2. Efeitos sobre *Typhlodromus pyri*

O ensaio deve fornecer dados suficientes para avaliar a toxicidade em termos de TAL_{50} e CSEO da substância ativa para *Typhlodromus pyri*.

Condições de ensaio

O ensaio inicial deve ser realizado com recurso a placas de vidro.

8.4. **Efeitos na mesofauna e na macrofauna do solo não visadas**

8.4.1. *Minhocas - efeitos subletais*

O ensaio deve fornecer informações sobre os efeitos no crescimento, reprodução e comportamento das minhocas.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os efeitos subletais para as minhocas devem ser investigados sempre que a substância ativa seja suscetível de contaminar o solo.

Condições de ensaio

Os ensaios devem determinar uma relação dose-resposta, e os valores CE_{10}, CE_{20} e CSEO devem permitir que a avaliação do risco seja efetuada em conformidade com a análise do quociente de risco adequado, tendo em conta a exposição provável, o teor de carbono orgânico (f_{oc}) do meio utilizado para o ensaio e as propriedades lipofílicas (K_{ow}) da substância submetida a ensaio. A substância submetida a ensaio deve ser incorporada no solo para se obter uma concentração homogénea no solo. O ensaio com metabolitos do solo pode ser evitado se existirem provas analíticas que indiquem que o metabolito está presente numa concentração e duração adequadas no estudo efetuado com a substância ativa que lhe deu origem.

8.4.2. *Efeitos na mesofauna e na macrofauna do solo não visadas (exceto minhocas)*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os efeitos para os organismos do solo, à exceção das minhocas, devem ser investigados para todas as substâncias de ensaio, exceto em situações em que os organismos do solo não sejam expostos, tais como:

a) armazenagem de géneros alimentícios em espaços fechados que impedem a exposição;

b) tratamentos de desinfeção e de cicatrização de feridas;

c) espaços fechados com iscos rodenticidas.

No que se refere aos produtos fitofarmacêuticos aplicados por pulverização foliar, as autoridades nacionais competentes podem exigir dados relativos a *Folsomia candida* e *Hypoaspis aculeifer*. Se existirem dados sobre *Aphidius rhopalosiphi* e sobre *Typhlodromus pyri*, os mesmos poderão ser utilizados numa avaliação inicial do risco. Se os ensaios referidos no ponto 8.3.2 derem origem a preocupações relativamente a qualquer uma das espécies, é necessário apresentar dados relativos a *Folsomia candida* e a *Hypoaspis aculeifer*.

Se não existirem dados sobre *Aphidius rhopalosiphi* e *Typhlodromus pyri* devem ser apresentados os dados referidos no ponto 8.4.2.1.

▼B

Para produtos fitofarmacêuticos aplicados diretamente no solo como tratamento do solo, por pulverização ou em fórmula sólida, devem ser efetuados ensaios em ambas as espécies *Folsomia candida* e *Hypoaspis aculeifer* (ver ponto 8.4.2.1).

8.4.2.1. Ensaio a nível da espécie

O ensaio deve fornecer informações suficientes para avaliar a toxicidade da substância ativa para as espécies de invertebradas do solo indicadoras *Folsomia candida* e *Hypoaspis aculeifer*.

Condições de ensaio

Os ensaios devem determinar uma relação dose-resposta, e os valores CE_{10}, CE_{20} e CSEO devem permitir que a avaliação do risco seja efetuada em conformidade com a análise do quociente de risco adequado, tendo em conta a exposição provável, o teor de carbono orgânico (f_{oc}) do meio utilizado para o ensaio e as propriedades lipofílicas (K_{ow}) da substância submetida a ensaio. A substância submetida a ensaio deve ser incorporada no solo para se obter uma concentração homogénea no solo. O ensaio com metabolitos do solo pode ser evitado se existirem provas analíticas que indiquem que o metabolito está presente numa concentração e duração adequadas no estudo efetuado com a substância ativa que lhe deu origem.

8.5. **Efeitos na transformação do azoto do solo**

O ensaio deve fornecer dados suficientes para avaliar o impacto das substâncias ativas na atividade microbiana do solo, em termos de transformação de azoto.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

O ensaio deve ser realizado quando os produtos fitofarmacêuticos que contêm a substância ativa são aplicados no solo ou podem contaminá-lo em condições práticas de utilização. No caso das substâncias ativas destinadas a utilização em produtos fitofarmacêuticos para a esterilização do solo, devem ser concebidos estudos para medir as taxas de recuperação após o tratamento.

Condições de ensaio

As amostras utilizadas devem provir de solos agrícolas e ser objeto de colheita recente. Os locais da colheita de amostras não devem ter sido tratados nos dois anos anteriores com qualquer substância que possa alterar substancialmente a diversidade e os níveis das populações microbianas presentes, a não ser de uma forma transitória.

8.6. **Efeitos em plantas superiores terrestres não visadas**

8.6.1. *Resumo dos dados de triagem*

As informações fornecidas devem ser suficientes para permitir uma avaliação dos efeitos da substância ativa nas plantas não visadas.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os dados de triagem devem estabelecer se as substâncias de ensaio apresentam uma atividade herbicida ou reguladora do crescimento vegetal. Os dados devem englobar ensaios efetuados a partir de seis espécies vegetais de seis famílias diferentes, incluindo mono e dicotiledóneas. As concentrações de ensaio e as taxas de aplicação devem ser iguais ou superiores à taxa máxima de aplicação recomendada e a uma taxa que simule o padrão de utilização em condições de campo, sendo o ensaio realizado após o tratamento final, ou a uma taxa aplicada diretamente que tenha em conta a acumulação de resíduos após aplicações múltiplas do produto fitofarmacêutico. Caso os estudos de triagem não abrangerem as espécies referidas ou as concentrações e taxas de aplicação necessárias, devem ser efetuados ensaios em conformidade com o ponto 8.6.2.

▼B

Para a avaliação de substâncias ativas com atividade herbicida ou reguladora do crescimento vegetal, não devem ser utilizados dados de triagem. Neste caso, é aplicável o ponto 8.6.2.

Condições de ensaio

Deve ser fornecido um resumo dos dados disponíveis resultantes dos ensaios utilizados para avaliar a atividade biológica e dos estudos para a determinação do intervalo de doses, quer positivos quer negativos, que possam fornecer informações relativamente ao possível impacto noutra flora não visada, juntamente com uma avaliação quanto ao potencial impacto em espécies vegetais não visadas.

Estes dados devem ser completados com outras informações, sob a forma de resumo, sobre os efeitos observados nos vegetais durante a realização dos ensaios de campo, nomeadamente estudos de campo sobre a eficácia, os resíduos, o destino ambiental e a ecotoxicidade.

8.6.2. *Ensaios em plantas não visadas*

O ensaio deve determinar os valores TAE_{50} da substância ativa para vegetais não visados.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Para substâncias ativas que apresentam uma atividade herbicida ou reguladora do crescimento vegetal, devem ser apresentados ensaios de concentração/resposta relativos ao vigor vegetativo e à emergência de plântulas com um mínimo de seis espécies representativas de famílias nas que foi observada uma ação herbicida/reguladora de crescimento vegetal. Sempre que, a partir do modo de ação, se possa estabelecer claramente que a emergência de plântulas ou o vigor vegetativo são afetados, deve ser realizado apenas o estudo pertinente.

Não são necessários dados sempre que a exposição seja negligenciável, por exemplo no caso de rodenticidas, de substâncias ativas utilizadas para cicatrização de feridas ou para tratamento de sementes, ou de substâncias ativas utilizadas em produtos armazenados ou em estufas, onde é impossível a exposição.

Condições de ensaio

Devem ser apresentados ensaios de dose-resposta com uma seleção de 6 a 10 espécies vegetais monocotiledóneas e dicotiledóneas representativas do maior grupo possível de grupos taxonómicos.

8.7. **Efeitos noutros organismos terrestres (flora e fauna)**

Devem ser comunicados quaisquer dados disponíveis sobre os efeitos do produto para outros organismos terrestres.

8.8. **Efeitos nos métodos biológicos de tratamento das águas residuais**

O ensaio deve fornecer uma indicação do potencial da substância ativa em sistemas de tratamento biológico de águas residuais.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Os efeitos nos métodos biológicos de tratamento de águas residuais devem ser comunicados sempre que a utilização do produto fitofarmacêutico que contém a substância ativa possa provocar efeitos adversos em instalações de tratamento de águas residuais.

8.9. **Dados de monitorização**

Devem ser comunicados os dados de monitorização disponíveis sobre os efeitos nocivos da substância ativa noutros organismos não visados.

▼B

SECÇÃO 9

Dados relativos à literatura

Deve ser apresentado um resumo de todos os dados relevantes das publicações científicas revistas por peritos avaliadores referentes à substância ativa, aos metabolitos, aos produtos de degradação ou de reação e aos produtos fitofarmacêuticos que contêm a substância ativa.

SECÇÃO 10

Classificação e rotulagem

Devem ser apresentadas e justificadas propostas de classificação e rotulagem da substância ativa nos termos do Regulamento (CE) n.º 1272/2008, incluindo:

— pictogramas,

— palavras-sinal,

— advertências de perigo, e

— recomendações de prudência.

PARTE B

MICRORGANISMOS, INCLUINDO VÍRUS

ÍNDICE

INTRODUÇÃO

1. IDENTIDADE DO MICRORGANISMO

1.1. Requerente

1.2. Produtor

1.3. Nome e descrição da espécie; caracterização da estirpe

1.4. Especificação do material utilizado para o fabrico de produtos formulados

1.4.1. Teor de microrganismo

1.4.2. Identidade e teor de impurezas, aditivos e microrganismos contaminantes

1.4.3. Características analíticas dos lotes

2. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO MICRORGANISMO

2.1. História do microrganismo e sua utilização. Ocorrência natural e distribuição geográfica

2.1.1. Historial

2.1.2. Origem e ocorrência natural

2.2. Informações sobre o organismo ou organismos visados

▼B

2.2.1. Descrição do organismo ou organismos visados

2.2.2. Modo de ação

2.3. Grau de especificidade ao hospedeiro e efeitos em espécies diferentes do organismo prejudicial visado

2.4. Fases de desenvolvimento/ciclo de vida do microrganismo

2.5. Infecciosidade e capacidade de dispersão e colonização

2.6. Relações com agentes patogénicos conhecidos dos vegetais, dos animais ou do homem

2.7. Estabilidade genética e fatores que a afetam

2.8. Informação sobre a produção de metabolitos (especialmente toxinas)

2.9. Antibióticos e outros agentes antimicrobianos

3. OUTRAS INFORMAÇÕES SOBRE O MICRORGANISMO

3.1. Função

3.2. Domínio de utilização previsto

3.3. Culturas ou produtos protegidos ou tratados

3.4. Método de produção e controlo da qualidade

3.5. Informações relativas ao desenvolvimento ou possível desenvolvimento de resistência por parte do organismo ou organismos visados

3.6. Métodos para evitar a perda de virulência do lote inicial do microrganismo

3.7. Métodos e precauções recomendados relativos a: manuseamento, armazenagem, transporte ou incêndio

3.8. Processos de destruição ou descontaminação

3.9. Medidas em caso de acidente

4. MÉTODOS DE ANÁLISE

4.1. Métodos de análise do microrganismo conforme produzido

4.2. Métodos de determinação e quantificação dos resíduos (viáveis ou não viáveis)

▼B

5. EFEITOS NA SAÚDE HUMANA

5.1. Informações de base

5.1.1. Dados médicos

5.1.2. Vigilância médica do pessoal das instalações fabris

5.1.3. Se adequado, dados sobre sensibilização/alergenicidade

5.1.4. Observação direta, nomeadamente casos clínicos

5.2. Estudos de base

5.2.1. Sensibilização

5.2.2. Toxicidade, patogenicidade e infecciosidade agudas

5.2.2.1. Toxicidade, patogenicidade e infecciosidade agudas por via oral

5.2.2.2. Toxicidade, patogenicidade e infecciosidade agudas por via inalatória

5.2.2.3. Dose única por via intraperitoneal/subcutânea

5.2.3. Teste de genotoxicidade

5.2.3.1. Estudos *in vitro*

5.2.4. Estudos com culturas celulares

5.2.5. Dados sobre a toxicidade e a patogenicidade a curto prazo

5.2.5.1. Efeitos na saúde da exposição repetida por via inalatória

5.2.6. Tratamento proposto: primeiros socorros e tratamento médico

5.3. Estudos específicos de toxicidade, patogenicidade e infecciosidade

5.4. Estudos *in vivo* em células somáticas

5.5. Genotoxicidade — Estudos *in vivo* em células germinativas

5.6. Resumo da toxicidade, patogenicidade e infecciosidade em mamíferos e avaliação global

6. RESÍDUOS NO INTERIOR E À SUPERFÍCIE DE PRODUTOS, GÉNEROS ALIMENTÍCIOS E ALIMENTOS PARA ANIMAIS, TRATADOS

6.1. Persistência e probabilidade de multiplicação no interior ou à superfície de culturas, alimentos para animais ou géneros alimentícios

▼B

6.2. Informações adicionais exigidas

6.2.1. Resíduos não viáveis

6.2.2. Resíduos viáveis

6.3. Resumo e avaliação do comportamento dos resíduos resultante dos dados apresentados nos pontos 6.1 e 6.2

7. DESTINO E COMPORTAMENTO NO AMBIENTE

7.1. Persistência e multiplicação

7.1.1. Solo

7.1.2. Água

7.1.3. Avião

7.2. Mobilidade

8. EFEITOS EM ORGANISMOS NÃO VISADOS

8.1. Efeitos em aves

8.2. Efeitos em organismos aquáticos

8.2.1. Efeitos em peixes

8.2.2. Efeitos em invertebrados de água doce

8.2.3. Efeitos no crescimento das algas

8.2.4. Efeitos em vegetais que não as algas

8.3. Efeitos em abelhas

8.4. Efeitos em artrópodes, excluindo as abelhas

8.5. Efeitos em minhocas

8.6. Efeitos em microrganismos do solo não visados

8.7. Ensaios adicionais

9. RESUMO E AVALIAÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL

Introdução

i) As substâncias ativas estão definidas no artigo 2.o, n.º 2, do Regulamento (CE) n.º 1107/2009 e abrangem substâncias químicas e microrganismos, incluindo vírus.

A presente parte estabelece os requisitos em matéria de dados aplicáveis às substâncias ativas constituídas por microrganismos, incluindo vírus.

O termo «microrganismos», tal como definido no artigo 3.o do Regulamento (CE) n.º 1107/2009, abrange, entre outros, bactérias, fungos, protozoários, vírus e viróides.

▼B

ii) Relativamente a todos os microrganismos que são objeto de pedido, devem ser fornecidos todos os dados disponíveis e informações pertinentes publicadas.

As informações de maior importância e interesse obtêm-se a partir da caracterização e identificação do microrganismo. Essas informações constam das secções 1 a 3 (identidade, propriedades biológicas e outras informações) e constituem a base para uma avaliação dos efeitos na saúde humana e no ambiente.

São habitualmente exigidos dados obtidos recentemente com experiências toxicológicas e/ou patológicas convencionais com animais de laboratório, a não ser que o requerente possa demonstrar, com base nas informações anteriores, que a utilização do microrganismo, nas condições propostas, não tem quaisquer efeitos prejudiciais na saúde humana e animal ou nas águas subterrâneas, nem qualquer influência inaceitável no ambiente.

iii) Na pendência da aceitação de diretrizes específicas a nível internacional, as informações exigidas serão obtidas por meio dos métodos de ensaio existentes aceites pela autoridade competente [por exemplo, método USEPA ([1])]; se for caso disso, os métodos de ensaio descritos na parte A devem ser adaptados de modo a torná-los adequados para os microrganismos. Os ensaios devem incluir microrganismos viáveis e, se for caso disso, não viáveis, bem como um ensaio em branco.

iv) Quando sejam efetuados ensaios, deve ser fornecida uma descrição pormenorizada (especificações) do material utilizado e das suas impurezas, como previsto no ponto 1.4. O material utilizado deve respeitar as especificações que serão utilizadas no fabrico das preparações a autorizar.

Aquando da realização de ensaios com microrganismos produzidos em laboratório ou num sistema de produção-piloto, os ensaios devem ser repetidos com os microrganismos fabricados à escala industrial, exceto se for possível demonstrar que o material de ensaio utilizado é essencialmente o mesmo para efeitos de análise e avaliação.

v) Quando o microrganismo tenha sido geneticamente modificado, tem que ser apresentada uma cópia da apreciação dos dados respeitantes à avaliação dos riscos ambientais, conforme previsto no artigo 48.º do Regulamento (CE) n.º 1107/2009.

vi) Sempre que necessário, os dados devem ser analisados por meio de métodos estatísticos adequados. Devem ser apresentados todos os pormenores da análise estatística (por exemplo, todas as estimativas pontuais devem ser indicadas com intervalos de confiança e valores p exatos, em vez da indicação de significativo ou não significativo).

vii) No caso dos estudos em que a administração se prolongue por um certo período, deve ser utilizado de preferência um único lote do microrganismo, se a estabilidade o permitir.

Se os ensaios não forem feitos com um lote único do microrganismo, a similaridade dos diferentes lotes tem que ser verificada.

Sempre que um ensaio implique a utilização de diferentes doses, deve ser indicada a relação entre as doses e os efeitos adversos.

([1]) USEPA *Microbial Pesticide Test Guidelines*, OPPTS Série 885, fevereiro 1996.

▼B

viii) Caso se saiba que a ação fitofarmacêutica se deve ao efeito residual de uma toxina/metabolito ou se forem esperados resíduos significativos de toxinas/ /metabolitos não relacionados com o efeito da substância ativa, tem que ser apresentado um processo para a toxina/metabolito em conformidade com os requisitos da parte A do presente anexo.

1. IDENTIDADE DO MICRORGANISMO

A identificação e a caracterização do microrganismo fornecem as informações mais importantes e constituem um ponto crucial para a tomada de decisões.

1.1. **Requerente**

Devem ser indicados o nome e o endereço do requerente, bem como o nome, cargo e números de telefone e de fax da pessoa a contactar.

Quando, além disso, o requerente tenha um escritório, um agente ou um representante no Estado-Membro em que é apresentado o pedido de aprovação e, quando diferentes, no Estado-Membro relator designado pela Comissão, devem ser indicados o nome e o endereço do escritório, agente ou representante local, bem como o nome, cargo e números de telefone e de fax da pessoa a contactar.

1.2. **Produtor**

Devem ser indicados o nome e o endereço do produtor ou produtores do microrganismo, bem como o nome e endereço de cada unidade que o produza. Deve ser indicado um ponto de contacto (de preferência um ponto de contacto central, que inclua o nome e os números de telefone e de fax), com vista a fornecer informações atualizadas e responder a eventuais questões sobre a tecnologia de produção, os procedimentos e a qualidade do produto (incluindo, quando pertinente, lotes individuais). Quando, após a aprovação do microrganismo, se registarem alterações na localização ou no número dos produtores, as informações exigidas devem ser de novo notificadas à Comissão e aos Estados-Membros.

1.3. **Nome e descrição da espécie; caracterização da estirpe**

i) O microrganismo deve ser depositado numa coleção de culturas reconhecida internacionalmente e receber um número de registo, devendo essas informações ser comunicadas.

ii) Cada microrganismo que é objeto de pedido deve ser identificado e nomeado a nível da espécie. Devem ser indicados o nome científico e o grupo taxonómico, ou seja, família, género, espécie, estirpe, serótipo, patovar ou qualquer outra denominação relevante para o microrganismo.

Deve indicar-se se o microrganismo:

— é indígena ou não indígena a nível da espécie para a área de aplicação a que se destina,

— é um tipo selvagem,

— é um mutante espontâneo ou induzido,

— foi modificado por meio das técnicas descritas no anexo I A, parte 2, e no anexo I B da Diretiva 2001/18/CE do Parlamento Europeu e do Conselho ([1]).

([1]) JO L 106 de 17.4.2001, p. 1.

▼B

Nos dois últimos casos devem ser indicadas todas as diferenças conhecidas entre o microrganismo modificado e as estirpes originais selvagens.

iii) Deve recorrer-se à melhor tecnologia disponível para identificar e caracterizar o microrganismo a nível da estirpe. Devem indicar-se os métodos de pesquisa e os critérios utilizados na identificação (por exemplo, morfologia, bioquímica, serologia, identificação molecular).

iv) Devem indicar-se a denominação comum ou alternativa e as denominações já desatualizadas, bem como os nomes de código utilizados durante o desenvolvimento, se for caso disso.

v) Devem ser indicadas as relações com agentes patogénicos conhecidos.

1.4. **Especificação do material utilizado para o fabrico de produtos formulados**

1.4.1. *Teor de microrganismo*

Devem ser comunicados o teor mínimo e máximo do microrganismo no material utilizado para o fabrico de produtos formulados. O teor deve ser expresso em termos adequados, como o número de unidades ativas por volume ou peso, ou de qualquer outra forma apropriada para o microrganismo.

Se as informações fornecidas forem respeitantes a um sistema de produção-piloto, as informações exigidas devem ser notificadas de novo à Comissão e aos Estados-Membros quando os métodos e técnicas de produção à escala industrial tiverem estabilizado, caso as alterações da produção originem uma especificação de pureza diferente.

1.4.2. *Identidade e teor de impurezas, aditivos e microrganismos contaminantes*

É desejável que, quando possível, os produtos fitofarmacêuticos não apresentem contaminantes (incluindo microrganismos contaminantes). O nível e a natureza dos contaminantes aceitáveis deve ser determinado pela autoridade competente com base numa avaliação do risco.

Caso seja possível e adequado, devem fornecer-se a identidade e o teor máximo de todos os microrganismos contaminantes expresso nas unidades adequadas. As informações sobre a identidade devem ser comunicadas, sempre que possível, conforme indicado no ponto 1.3.

Os metabolitos relevantes (isto é, que possam vir a constituir motivo de preocupação para a saúde humana e/ou o ambiente) que se sabe serem formados pelo microrganismo devem ser identificados e caracterizados em diferentes estados ou fases de crescimento do microrganismo [ver alínea viii) da introdução da presente parte B].

Caso sejam pertinentes, devem ser fornecidas informações pormenorizadas sobre todos os componentes, como condensados, meio de cultura, etc.

No caso de impurezas químicas relevantes para a saúde humana e/ou o ambiente, a identidade e o teor máximo, expressos em termos adequados, devem ser indicados.

Relativamente aos aditivos, devem fornecer-se a identidade e o teor, em g/kg.

▼B

As informações sobre a identidade de substâncias químicas, como os aditivos, devem ser fornecidas conforme indicado na parte A, ponto 1.10.

1.4.3. *Características analíticas dos lotes*

Se for caso disso, devem comunicar-se, utilizando as unidades adequadas, os dados referidos na parte A, ponto 1.11.

2. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO MICRORGANISMO

2.1. **História do microrganismo e sua utilização. Ocorrência natural e distribuição geográfica**

Devem apresentar-se os conhecimentos relevantes existentes sobre o microrganismo.

2.1.1. *Historial*

Devem fornecer-se os antecedentes históricos do microrganismo e sua utilização (ensaios/projetos de investigação ou utilização comercial).

2.1.2. *Origem e ocorrência natural*

A região geográfica e a posição no ecossistema (por exemplo, planta hospedeira, animal hospedeiro, solo no qual o microrganismo foi isolado) devem ser indicados. O método de isolamento do microrganismo deve ser comunicado. A ocorrência natural do microrganismo no meio em causa deve ser indicada, se possível a nível da estirpe.

No caso de um mutante ou de um microrganismo geneticamente modificado, devem ser fornecidas informações pormenorizadas sobre a sua produção e isolamento e sobre os meios que permitem distingui-lo claramente da estirpe original selvagem.

2.2. **Informações sobre o organismo ou organismos visados**

2.2.1. *Descrição do organismo ou organismos visados*

Se for caso disso, devem ser fornecidas informações sobre os organismos prejudiciais contra os quais é obtida a proteção.

2.2.2. *Modo de ação*

Deve ser indicado o modo de ação principal. Em relação com o modo de ação, deve também indicar-se se o microrganismo produz uma toxina com um efeito residual no organismo visado. Nesse caso, o modo de ação dessa toxina deve ser descrito.

Se for caso disso, devem ser fornecidas informações sobre o local de infeção e o modo de entrada no organismo visado e as suas fases suscetíveis. Devem ser comunicados os resultados de quaisquer estudos experimentais.

Deve indicar-se de que forma pode ocorrer (por exemplo, contacto, ingestão inalação) a absorção do microrganismo ou dos seus metabolitos (especialmente toxinas). Deve também indicar-se se o microrganismo ou os seus metabolitos são ou não translocado nos vegetais e, se pertinente, como essa translocação se processa.

Em caso de efeito patogénico no organismo visado, devem indicar-se a dose infecciosa (a dose necessária para provocar infeção com o objetivo pretendido numa espécie visada) e a transmissibilidade [possibilidade de propagação do microrganismo na população visada, mas também de uma espécie visada para outra espécie (visada)] após aplicação segundo as condições de utilização propostas.

▼B

2.3. **Grau de especificidade ao hospedeiro e efeitos em espécies diferentes do organismo prejudicial visado**

Devem ser fornecidas as informações disponíveis sobre os efeitos em organismos não visados na área em que o microrganismo se pode propagar. Deve ser indicada a ocorrência de organismos não visados estreitamente relacionados com a espécie visada ou especialmente expostos.

Devem ser comunicadas todas as informações sobre o efeito tóxico da substância ativa ou dos seus produtos metabólicos nos seres humanos ou animais e indicado se o organismo é capaz de colonizar ou invadir seres humanos ou animais (incluindo indivíduos imunodeprimidos) e se é patogénico. Deve também indicar-se se a substância ativa ou os seus produtos podem irritar a pele, os olhos ou os órgãos respiratórios dos seres humanos ou animais ou se provoca alergia quando em contacto com a pele ou quando inalada.

2.4. **Fases de desenvolvimento/ciclo de vida do microrganismo**

Devem ser apresentadas informações sobre o ciclo de vida do microrganismo e comunicados casos descritos de simbiose, parasitismo, competidores, predadores, etc., incluindo organismos hospedeiros, bem como vetores de vírus.

O tempo de geração e o tipo de reprodução do microrganismo devem ser indicados.

Devem ser fornecidas informações sobre a ocorrência de fases de repouso e o tempo de sobrevivência, bem como sobre a virulência e o potencial infeccioso.

Deve indicar-se o potencial do microrganismo para produzir metabolitos, incluindo as toxinas que possam constituir motivo de preocupação para a saúde humana e/ou o ambiente, nas suas diferentes fases de desenvolvimento após a libertação.

2.5. **Infecciosidade e capacidade de dispersão e colonização**

Deve indicar-se a persistência do microrganismo e fornecer-se informações sobre o seu ciclo de vida nas condições ambientais típicas de utilização. Além disso, deve indicar-se qualquer sensibilidade especial do microrganismo a certos compartimentos ambientais (por exemplo, raios ultravioleta, solo, água).

Devem indicar-se os requisitos ambientais (temperatura, pH, humidade, necessidade de nutrientes, etc.) para a sobrevivência, reprodução, colonização, realização de danos (incluindo tecidos humanos) e eficácia do microrganismo. Deve indicar-se a presença de fatores de virulência específicos.

A gama de temperaturas a que o microrganismo se desenvolve deve ser determinada, incluindo as temperaturas mínima, máxima e ótima. Essas informações são de especial importância como base para estudos sobre os efeitos na saúde humana (secção 5).

Devem também comunicar-se os possíveis efeitos de fatores como a temperatura, raios ultravioleta, pH e a presença de certas substâncias na estabilidade de toxinas relevantes.

Devem ser fornecidas informações sobre as possíveis vias de dispersão do microrganismo (através do ar como partículas de poeira ou aerossóis, através de organismos hospedeiros como vetores, etc.) nas condições ambientais típicas de utilização.

▼B

2.6. **Relações com agentes patogénicos conhecidos dos vegetais, dos animais ou do homem**

Deve indicar-se a eventual existência de uma ou mais espécies do género do microrganismo ativo e/ou, se for caso disso, contaminante que se saiba serem patogénicas para os seres humanos, os animais, as culturas ou outras espécies não visadas e o tipo de doença que provocam. Deve indicar-se se é possível, e, nesse caso, quais os meios que permitem distinguir claramente o microrganismo ativo da espécie patogénica.

2.7. **Estabilidade genética e fatores que a afetam**

Se for caso disso, devem ser fornecidas informações sobre a estabilidade genética (por exemplo, taxa de mutação dos carateres relacionados com o modo de ação ou absorção de material genético exógeno) nas condições ambientais da utilização proposta.

Devem também ser fornecidas informações sobre a capacidade do microrganismo de transferir material genético para outros organismos e o seu potencial patogénico para os vegetais, animais ou seres humanos. Se o microrganismo for portador de elementos genéticos adicionais relevantes, deve ser indicada a estabilidade dos carateres codificados.

2.8. **Informação sobre a produção de metabolitos (especialmente toxinas)**

Se se souber que outras estirpes pertencentes à mesma espécie microbiana da estirpe que é objeto de pedido produzem metabolitos (especialmente toxinas) que têm efeitos inaceitáveis na saúde humana e/ou no ambiente durante ou após a aplicação, devem indicar-se a natureza e a estrutura dessa substância, a sua presença dentro ou fora da célula e a sua estabilidade, o seu modo de ação (incluindo fatores externos e internos necessários para a ação do microrganismo), bem como o seu efeito nos seres humanos, animais ou outras espécies não visadas.

Devem ser descritas as condições em que o microrganismo produz os metabolitos (especialmente toxinas).

Devem ser fornecidas todas as informações disponíveis sobre o mecanismo pelo qual os microrganismos regulam a produção desses metabolitos.

Devem ser fornecidas todas as informações disponíveis sobre a influência dos metabolitos produzidos no modo de ação do microrganismo.

2.9. **Antibióticos e outros agentes antimicrobianos**

Muitos microrganismos produzem certas substâncias antibióticas. A interferência com a utilização de antibióticos em medicina humana ou veterinária deve ser evitada em todas as fases do desenvolvimento de um produto fitofarmacêutico microbiano.

Devem ser fornecidas informações sobre a resistência ou a sensibilidade do microrganismo a antibióticos ou outros agentes antimicrobianos, nomeadamente quanto à estabilidade dos genes que codificam a resistência aos antibióticos, a não ser que se possa provar que o microrganismo não tem efeitos prejudiciais para a saúde humana ou animal ou que não pode transferir a sua resistência aos antibióticos ou a outros agentes antimicrobianos.

3. OUTRAS INFORMAÇÕES SOBRE O MICRORGANISMO

Introdução

i) As informações fornecidas devem descrever as utilizações, ou utilizações propostas, das preparações que contêm o microrganismo e a dose e o modo de uso ou de uso proposto.

▼B

ii) As informações fornecidas devem especificar os métodos e precauções normais a seguir na manipulação, armazenagem e transporte do microrganismo.

iii) Os estudos, dados e informações apresentados devem demonstrar a adequabilidade das medidas propostas para utilização em situações de emergência.

iv) Salvo especificação em contrário, as informações e os dados referidos são obrigatórios para todos os microrganismos.

3.1. **Função**

Deve especificar-se a função biológica de entre as seguintes:

— controlo de bactérias,

— controlo de fungos,

— controlo de insetos,

— controlo de ácaros,

— controlo de moluscos,

— controlo de nemátodos,

— controlo de infestantes,

— outros (especificar).

3.2. **Domínio de utilização previsto**

Os domínios de utilização, existentes e propostos, das preparações que contêm o microrganismo devem ser especificados de entre os seguintes:

— utilização de campo, como a agricultura, a horticultura, a silvicultura e a viticultura,

— culturas protegidas (por exemplo, em estufa),

— espaços de lazer,

— controlo de infestantes em zonas não cultivadas,

— jardins e hortas familiares,

— plantas de interior,

— produtos armazenados,

— outras (especificar).

3.3. **Culturas ou produtos protegidos ou tratados**

Devem ser fornecidos pormenores sobre a utilização existente ou proposta em termos de culturas, grupos de culturas, vegetais ou produtos vegetais protegidos.

▼B

3.4. **Método de produção e controlo da qualidade**

Devem ser fornecidas informações completas sobre a forma de produção do organismo em grande escala.

Tanto o método/processo de produção como o produto devem ser submetidos a um controlo contínuo da qualidade pelo requerente. Em especial, devem ser monitorizadas a ocorrência de alterações espontâneas das principais características do microrganismo e a ausência/ /presença de contaminantes significativos. Devem indicar-se os critérios de garantia de qualidade da produção.

Devem descrever-se e especificar-se as técnicas utilizadas para assegurar a uniformidade do produto e os métodos de ensaio respeitantes à sua normalização e conservação e à pureza do microrganismo (por exemplo, HACCP).

3.5. **Informações relativas ao desenvolvimento ou possível desenvolvimento de resistência por parte do organismo ou organismos visados**

Devem ser fornecidas, quando disponíveis, informações sobre a possibilidade de desenvolvimento de resistência ou de resistência cruzada por parte do organismo ou organismos visados. Se possível, devem ser descritas estratégias adequadas de gestão.

3.6. **Métodos para evitar a perda de virulência do lote inicial do microrganismo**

Devem ser indicados métodos para evitar a perda de virulência das culturas iniciais.

Devem, além disso, ser descritos, caso existam, métodos que possam impedir que o microrganismo perca os seus efeitos na espécie visada.

3.7. **Métodos e precauções recomendados relativos a: manuseamento, armazenagem, transporte ou incêndio**

Para cada microrganismo, deve ser fornecida uma ficha de dados de segurança em conformidade com o artigo 31.º do Regulamento (CE) n.º 1907/2006.

3.8. **Processos de destruição ou descontaminação**

Em muitos casos, o único meio, ou o meio preferível, de eliminar com segurança os microrganismos, materiais contaminados ou embalagens contaminadas consiste na incineração controlada num incinerador autorizado.

Devem ser descritos pormenorizadamente os métodos para eliminar com segurança os microrganismos ou, quando necessário, para os destruir antes da eliminação, bem como os métodos para eliminar embalagens contaminadas e materiais contaminados. Devem ser fornecidos dados que permitam determinar a eficácia e segurança desses métodos.

3.9. **Medidas em caso de acidente**

Devem ser indicados os métodos para tornar o microrganismo inofensivo no ambiente (por exemplo, água ou solo) em caso de acidente.

4. MÉTODOS DE ANÁLISE

Introdução

O disposto na presente secção abrange apenas os métodos de análise necessários para efeitos de controlo e monitorização pós-registo.

▼B

Para todas as áreas de avaliação do riscos, pode ser considerada uma monitorização pós-aprovação. É esse em especial o caso quando esteja em causa a aprovação de (estirpes de) microrganismos não indígenas para a área de aplicação prevista. Relativamente aos métodos de análise utilizados para a obtenção de dados em conformidade com as exigências do presente regulamento ou para outros efeitos, o requerente deve apresentar uma justificação para o método utilizado; sempre que seja necessário, serão desenvolvidas orientações separadas para esses métodos com base nos mesmos requisitos definidos para os métodos de controlo e monitorização pós-registo.

Devem ser apresentadas descrições dos métodos, devendo ser incluídas indicações pormenorizadas relativas ao equipamento, materiais e condições utilizados. Deve ser comunicada a aplicabilidade de quaisquer métodos internacionalmente reconhecidos.

Na medida do possível, esses métodos devem utilizar a abordagem mais simples, ser o menos dispendiosos possível e utilizar equipamento correntemente disponível.

São também exigidos dados sobre a especificidade, a linearidade, a exatidão e a repetibilidade, conforme definidas na parte A, pontos 4.1 e 4.2, para os métodos utilizados na análise dos microrganismos e respetivos resíduos.

Para efeitos da presente secção é aplicável o seguinte:

Impurezas, metabolitos, metabolitos relevantes, resíduos	Como definidos no Regulamento (CE) n.º 1107/2009
Impurezas relevantes	Impurezas, conforme acima definidas, que possam constituir motivo de preocupação para a saúde humana ou animal e/ou para o ambiente

Quando solicitadas, devem ser fornecidas as seguintes amostras:

i) amostras do microrganismo conforme produzido,

ii) padrões analíticos de metabolitos relevantes (especialmente toxinas) e de todos os outros componentes incluídos na definição de resíduo,

iii) se disponíveis, amostras de substâncias de referência para as impurezas relevantes.

4.1. **Métodos de análise do microrganismo conforme produzido**

— Métodos de identificação do microrganismo.

— Métodos de fornecimento das informações sobre a possível variabilidade do lote inicial/microrganismo ativo.

— Métodos de diferenciar um mutante do microrganismo da estirpe original selvagem.

— Métodos de estabelecimento da pureza do lote inicial a partir do qual os lotes são produzidos e métodos de controlo dessa pureza.

▼B

— Métodos de determinação do teor do microrganismo no material fabricado utilizado para a produção de produtos formulados e métodos que demonstrem que os microrganismos contaminantes são controlados a um nível aceitável.

— Métodos de determinação das impurezas relevantes no material produzido.

— Métodos de controlo da ausência e de quantificação (com limites de determinação adequados) da possível presença de quaisquer agentes patogénicos para o homem ou os mamíferos.

— Métodos de determinação da estabilidade em armazenagem e do período de conservação do microrganismo, se for caso disso.

4.2. **Métodos de determinação e quantificação dos resíduos (viáveis ou não viáveis)**

de:

— microrganismos ativos,

— metabolitos relevantes (especialmente toxinas),

nas culturas, nos géneros alimentícios e alimentos para animais, nos tecidos e fluidos corporais animais e humanos, no solo, na água (incluindo a água potável, as águas subterrâneas e as águas superficiais) e no ar, quando apropriado.

Devem também ser incluídos os métodos analíticos de determinação do teor ou atividade dos produtos proteicos, tais como a análise de culturas exponenciais e sobrenadantes num bioensaio de células animais.

5. EFEITOS NA SAÚDE HUMANA

Introdução

i) Os dados disponíveis, baseados nas propriedades do microrganismo e dos organismos correspondentes (secções 1, 2 e 3), incluindo os relatórios de saúde e médicos, podem ser suficientes para decidir se o microrganismo pode ou não ter efeitos na saúde humana (infecciosidade/patogenicidade/toxicidade).

ii) Os dados fornecidos, juntamente com os relativos a uma ou mais preparações que contenham o microrganismo, devem ser suficientes para permitir a avaliação dos riscos para o homem ligados direta e/ou indiretamente ao manuseamento e utilização dos produtos fitofarmacêuticos que contenham o microrganismo, bem como do risco para o homem do manuseamento de produtos tratados ou resultante dos vestígios residuais ou dos contaminantes que permaneçam nos alimentos e na água. além disso, as informações fornecidas devem ser suficientes para:

— permitir uma decisão quanto à aprovação ou não do microrganismo,

— especificar as condições ou restrições adequadas a associar a uma eventual aprovação,

— especificar indicações de perigo e segurança (uma vez introduzidas) a incluir na embalagem (recipientes), com vista à proteção do homem, dos animais e do ambiente,

▼B

— identificar medidas pertinentes de primeiros socorros, bem como medidas adequadas de diagnóstico e terapêuticas, a tomar em caso de infeção ou outros efeitos adversos no homem.

iii) Todos os efeitos apurados ao longo das investigações devem ser notificados. Pode ser igualmente necessário efetuar investigações para apurar qual o mecanismo mais provavelmente envolvido e para avaliar a significância destes efeitos.

iv) Em todos os estudos deve ser indicada a dose real alcançada, expressa em unidades formadoras de colónias por quilograma (UFC/kg) de peso corporal, bem como noutras unidades adequadas.

v) A avaliação do microrganismo deve ser efetuada por fases.

A primeira fase (fase I) abrange as informações básicas disponíveis e estudos básicos, que devem ser efetuados em relação a todos os microrganismos. É necessário obter o parecer de peritos antes de se decidir, caso a caso, sobre o programa de ensaios adequado. São geralmente necessários dados novos, provenientes de testes toxicológicos e/ou anatomopatológicos convencionais em animais de laboratório, a menos que o requerente possa justificar, com base em dados prévios, que o recurso ao microrganismo, nas condições de utilização propostas, não conduz a efeitos nocivos para a saúde humana ou animal. Na pendência da aceitação de diretrizes específicas a nível internacional, os dados necessários serão gerados através do recurso aos métodos de ensaio disponíveis (exemplo: USEPA OPPTS Guidelines).

Se os testes da fase I revelarem efeitos adversos na saúde, devem efetuar-se estudos da fase II. O tipo de estudo a realizar depende dos efeitos observados nos estudos de Fase I. Antes da realização destes estudos, o requerente deve obter o acordo das autoridades competentes quanto ao tipo de estudo a realizar.

FASE I

5.1. **Informações de base**

São necessárias informações de base sobre a possibilidade de os microrganismos causarem efeitos adversos, como capacidade de colonização, lesões ou produção de toxinas e outros metabolitos relevantes.

5.1.1. *Dados médicos*

Sem prejuízo do disposto no artigo 10.o da Diretiva 98/24/CE, devem ser apresentados os dados práticos e informações disponíveis, pertinentes para o reconhecimento dos sintomas de infeção ou patogenicidade, bem como os relacionados com a eficácia das medidas de primeiros socorros e terapêuticas. Se adequado, devem ser obtidos e notificados dados relativos à eficácia de antagonistas potenciais. Se adequado, devem ser indicados métodos de destruição ou inativação do microrganismo (ver ponto 3.8).

Os dados e informações pertinentes sobre os efeitos da exposição do ser humano, sempre que estejam disponíveis e possuam a qualidade necessária, são particularmente importantes para confirmar a validade das extrapolações e das conclusões em relação aos órgãos-alvo, à virulência e à reversibilidade dos efeitos adversos. Esses dados podem ser obtidos na sequência de casos de exposição acidental ou ocupacional.

5.1.2. *Vigilância médica do pessoal das instalações fabris*

Devem ser apresentados os relatórios disponíveis dos programas de vigilância no âmbito da medicina do trabalho, que devem ser acompanhados de dados pormenorizados sobre a estrutura do programa e a exposição ao microrganismo. Estes relatórios devem, sempre que possível,

▼B

incluir dados pertinentes sobre o mecanismo de ação do microrganismo. Os relatórios devem incluir os dados disponíveis relativos a pessoas expostas ao microrganismo nas instalações fabris, ou após a aplicação do microrganismo (por exemplo, em ensaios de eficácia).

Há que prestar especial atenção às pessoas mais vulneráveis, como as com doenças prévias, medicação e imunodeficiência e as grávidas e lactantes.

5.1.3. *Se adequado, dados sobre sensibilização/alergenicidade*

Devem ser apresentados os dados disponíveis em relação à sensibilização e respostas alérgicas dos trabalhadores, incluindo os das instalações fabris, os trabalhadores agrícolas e os investigadores expostos ao microrganismo, e, se for caso disso, dados pormenorizados sobre a incidência de hipersensibilidade e sensibilização crónica. Devem ser indicados a frequência, nível e duração da exposição, os sintomas observados e outras informações clínicas pertinentes. Devem ser apresentados dados sobre se os trabalhadores foram ou não sujeitos a testes de alergia ou interrogados sobre sintomas alérgicos.

5.1.4. *Observação direta, nomeadamente casos clínicos*

Devem ser apresentados, juntamente com os relatórios de eventuais estudos de acompanhamento, os dados existentes na literatura sobre o microrganismo, ou sobre microrganismos estreitamente aparentados do mesmo grupo taxonómico (relativos a casos clínicos), desde que tenham sido publicados em revistas técnicas de prestígio ou em relatórios oficiais. Estes dados são particularmente valiosos e devem incluir a descrição completa da natureza, intensidade e duração da exposição, bem como os sintomas clínicos observados, as medidas de primeiros socorros e terapêuticas aplicadas e as medições e observações efetuadas. Os resumos de artigos têm valor limitado.

Caso sejam efetuados estudos em animais, os relatórios de casos clínicos podem ser particularmente valiosos para confirmar a validade da extrapolação para o homem dos dados relativos aos animais e para identificar efeitos adversos imprevistos, específicos do ser humano.

5.2. **Estudos de base**

Para que seja possível interpretar os resultados obtidos de forma correta, é muito importante que os métodos de ensaio sugeridos sejam relevantes em termos da sensibilidade da espécie, da via de administração, etc., bem como pertinentes numa perspetiva biológica e toxicológica. A via de administração do microrganismo testado depende das principais vias de exposição do ser humano.

Para avaliar os efeitos a médio e longo prazo na sequência da exposição aguda, subaguda ou semicrónica a microrganismos, é necessário utilizar as opções previstas nas diretrizes da OCDE, ou seja, o alongamento dos estudos em questão com um período de recuperação (após o qual se procede a um exame anatomopatológico macroscópico e microscópico completo, incluindo a pesquisa de microrganismos nos tecidos e órgãos). Facilita-se assim a interpretação de certos efeitos e possibilita-se o reconhecimento da infecciosidade e/ou patogenicidade, o que, por sua vez, ajuda a tomar decisões sobre outras questões, como a necessidade de execução de estudos a longo prazo (carcinogenicidade, etc., ver ponto 5.3), bem como a realização ou não de estudos de resíduos (ver ponto 6.2).

▼B

5.2.1. *Sensibilização* ([1])

Objetivo dos ensaios

O ensaio destina-se a fornecer dados suficientes para avaliar a capacidade de um microrganismo provocar reações de sensibilização por via inalatória, bem como através de exposição cutânea. Deve efetuar-se um ensaio maximizado.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos([2])

Devem ser apresentados dados relativos à sensibilização.

5.2.2. *Toxicidade, patogenicidade e infecciosidade agudas*

Os estudos, dados e informações a apresentar e avaliar devem ser suficientes para permitir determinar os efeitos na sequência de uma só exposição ao microrganismo, e para, nomeadamente, comprovar ou sugerir:

— a toxicidade, patogenicidade e infecciosidade do microrganismo,

— a evolução temporal e as características dos efeitos, incluindo dados pormenorizados sobre as alterações comportamentais e eventuais observações anatomopatológicas do exame post mortem,

— sempre que possível, o mecanismo da ação tóxica,

— os perigos relativos associados às várias vias de exposição, e

— análises do sangue, ao longo do período de duração dos estudos, para avaliar a eliminação do microrganismo.

Os efeitos tóxicos/patogénicos agudos podem estar associados a efeitos de infecciosidade e/ou a outros efeitos a mais longo prazo, que podem não ocorrer imediatamente. No que respeita à avaliação sanitária é, portanto, necessário, efetuar estudos sobre a infecciosidade ligada à ingestão, inalação e injeção intraperitoneal/subcutânea nos mamíferos sujeitos aos ensaios.

No decurso dos estudos de toxicidade, patogenicidade e infecciosidade agudas, deve proceder-se a uma estimativa da eliminação do microrganismo e/ou da toxina ativa nos órgãos considerados relevantes para o exame microbiológico (como o fígado, os rins, o baço, os pulmões, o cérebro e o sangue), bem como no local de administração.

As observações a efetuar devem refletir o parecer de peritos científicos e podem incluir a contagem de microrganismos em todos os tecidos suscetíveis de serem afetados (como os que apresentem lesões) e nos principais órgãos (rins, cérebro, fígado, pulmões, baço, bexiga, sangue, gânglios linfáticos, trato gastrointestinal, timo), bem como nas lesões no sítio de inoculação de animais mortos ou moribundos, ou sacrificados durante o estudo ou após a sua conclusão.

As informações obtidas durante os ensaios de toxicidade, patogenicidade e infecciosidade agudas são particularmente úteis para avaliar os perigos prováveis em caso de acidente e os riscos para o consumidor devidos à exposição a eventuais resíduos.

([1]) Os métodos disponíveis para testar a sensibilização cutânea não são adequados para testar microrganismos. A sensibilização por via inalatória constitui provavelmente um problema mais importante do que o resultante da exposição cutânea a microrganismos, embora, até ao momento, não haja métodos de ensaio validados. É, portanto, extremamente importante o desenvolvimento deste tipo de métodos. Até que tal se verifique, todos os microrganismos devem ser considerados sensibilizantes potenciais. Esta abordagem atende igualmente aos imunodeficientes e a outros indivíduos sensíveis da população (como as grávidas, os recém-nascidos e os idosos).

([2]) Dada a inexistência de métodos de ensaio adequados, todos os microrganismos serão considerados como potenciais sensibilizantes, a menos que o requerente pretenda demonstrar que tal facto se não verifica, graças à apresentação de dados. Por conseguinte, este requisito informativo deve ser provisoriamente considerado facultativo, e não obrigatório.

▼B

5.2.2.1. Toxicidade, patogenicidade e infecciosidade agudas por via oral

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser notificadas a toxicidade, patogenicidade e infecciosidade agudas do microrganismo por via oral.

5.2.2.2. Toxicidade, patogenicidade e infecciosidade agudas por via inalatória

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser notificadas a toxicidade, patogenicidade e infecciosidade agudas do microrganismo por via inalatória ([1]).

5.2.2.3. Dose única por via intraperitoneal/subcutânea

O ensaio intraperitoneal/subcutâneo é considerado muito sensível, sobretudo em relação à infecciosidade.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

A injeção intraperitoneal é sempre requerida para todos os microrganismos; no entanto, pode recorrer-se a um parecer especializado para avaliar se a injeção subcutânea é preferível à injeção intraperitoneal caso a temperatura máxima de crescimento e multiplicação seja inferior a 37 °C.

5.2.3. *Teste de genotoxicidade*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Se o microrganismo produzir exotoxinas, tal como referido no ponto 2.8, então deve igualmente testar-se a genotoxicidade de tais toxinas e quaisquer outros metabolitos relevantes do meio de cultura. Tais testes de toxinas e metabolitos devem efetuar-se, se possível, com produtos químicos purificados.

Se os estudos de base não revelarem a formação de metabolitos tóxicos, há que ponderar a realização de estudos do próprio microrganismo, tendo em conta o parecer de peritos sobre a relevância e a validade dos dados de base. No que respeita aos vírus, há que analisar o risco de mutagénese insercional em células de mamíferos, ou o risco de carcinogenicidade.

Objetivo dos ensaios

Estes estudos são importantes para:

— a previsão do potencial genotóxico,

— a identificação precoce de substâncias cancerígenas genotóxicas,

— o esclarecimento do mecanismo de ação de algumas substâncias cancerígenas.

É importante adotar uma abordagem flexível, dependendo a escolha dos ensaios a realizar em cada etapa da interpretação dos resultados obtidos na etapa anterior.

([1]) O estudo por via inalatória pode ser substituído por um estudo por via intratraqueal.

▼B

Condições de ensaio([1])

Sempre que possível, a genotoxicidade dos microrganismos celulares será estudada após rotura das paredes celulares. Deve justificar-se o método utilizado para a preparação da amostra.

A genotoxicidade dos vírus deve ser estudada em isolados infecciosos.

5.2.3.1. Estudos *in vitro*

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser apresentados os resultados dos testes de mutagenicidade *in vitro* (ensaio bacteriano de mutação de genes, ensaio de clastogenicidade em células de mamíferos e ensaio de mutação de genes em células de mamíferos).

5.2.4. *Estudos com culturas celulares*

Estes dados devem ser apresentados para os microrganismos com replicação intracelular, como os vírus, os viróides e determinadas bactérias e protozoários, a menos que os dados referidos nas secções 1, 2 e 3 demonstrem claramente que o microrganismo se não multiplica em organismos de sangue quente. Os estudos com culturas de células devem envolver culturas de células ou de tecidos humanos de vários órgãos. A seleção pode basear-se nos órgãos-alvo previsíveis de infeção. Se não estiverem disponíveis culturas de células ou de tecidos humanos de determinados órgãos, podem ser utilizadas culturas de células e de tecidos de outros mamíferos. No que respeita aos vírus, a sua capacidade de interação com o genoma humano é uma questão fundamental.

5.2.5. *Dados sobre a toxicidade e a patogenicidade a curto prazo*

Objetivo dos ensaios

Os estudos de toxicidade a curto prazo devem ser concebidos por forma a fornecer informações quanto à quantidade de microrganismo que pode ser tolerada sem efeitos tóxicos, nas condições do estudo. Estes estudos fornecem informações úteis sobre os riscos para quem manuseia e utiliza preparações com o microrganismo. Os estudos a curto prazo dão, nomeadamente, indicações essenciais quanto a eventuais efeitos cumulativos do microrganismo e quanto aos riscos para os trabalhadores eventualmente sujeitos a uma exposição intensiva. Além disso, as informações fornecidas pelos estudos a curto prazo são úteis para a conceção dos estudos de toxicidade crónica.

Os estudos, dados e informações a fornecer e analisar devem ser suficientes para permitir a identificação dos efeitos da exposição repetida ao microrganismo, e, em particular, apurar ou sugerir:

— a relação entre a dose e os efeitos adversos,

— a toxicidade do microrganismo, incluindo, se necessário, o NSEAO das toxinas,

— se relevante, os órgãos-alvo,

— a evolução temporal e as características dos efeitos, incluindo dados pormenorizados sobre as alterações comportamentais e eventuais observações anatomopatológicas do exame post mortem,

— efeitos tóxicos específicos e alterações patológicas produzidas,

— se relevante, a persistência e irreversibilidade de determinados efeitos tóxicos observados após a interrupção da administração,

([1]) Uma vez que os atuais métodos de ensaio foram concebidos para substâncias químicas solúveis, é necessário que os métodos sejam desenvolvidos por forma a que sejam relevantes para os microrganismos.

▼B

— sempre que possível, o mecanismo da ação tóxica, e

— o perigo relativo associado às diferentes vias de exposição.

No estudo de toxicidade a curto prazo, há que proceder à estimativa da eliminação do microrganismo nos órgãos principais.

Devem fazer-se investigações sobre parâmetros de patogenicidade e infecciosidade.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Devem ser apresentadas informações sobre a toxicidade do microrganismo a curto prazo (pelo menos 28 dias).

Deve justificar-se a seleção das espécies utilizadas no ensaio. A duração do estudo deve depender dos dados relativos à toxicidade aguda e à eliminação.

É necessário obter o parecer de peritos para decidir qual a via de administração preferível.

5.2.5.1. Efeitos na saúde da exposição repetida por via inalatória

São necessários dados sobre os efeitos na saúde da exposição repetida por via inalatória, designadamente com vista à avaliação do risco no contexto ocupacional. A exposição repetida pode influenciar a capacidade de eliminação (por exemplo, a resistência) do hospedeiro (o ser humano). Além disso, para uma avaliação do risco adequada, é necessário atender à toxicidade da exposição repetida a contaminantes, ao meio de cultura, a outros constituintes e ao microrganismo. Importa recordar que os coformulantes dos produtos fitofarmacêuticos podem influenciar a toxicidade e a infecciosidade do microrganismo.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

São necessários dados sobre a infecciosidade, a patogenicidade e a toxicidade a curto prazo (por via respiratória) do microrganismo, a menos que os dados já apresentados bastem para avaliar os efeitos na saúde humana. Esta eventualidade pode ocorrer caso se comprove que o material utilizado no ensaio não apresenta uma fração inalável e/ou se não preveja uma exposição repetida.

5.2.6. *Tratamento proposto: primeiros socorros e tratamento médico*

Devem ser indicadas as medidas de primeiros socorros a utilizar em caso de infeção, ou de contacto com os olhos.

Deve ser apresentada uma descrição completa dos regimes terapêuticos a utilizar em caso de ingestão ou de contacto com os olhos e a pele. Se relevante, devem ser fornecidas informações, quer com base na experiência prática, sempre que existam e estejam disponíveis, quer baseadas em argumentos teóricos, sobre a eficácia de eventuais regimes de tratamento alternativos.

Devem ser apresentadas informações sobre a resistência aos antibióticos.

(FIM DA FASE I)

▼B

FASE II

5.3. **Estudos específicos de toxicidade, patogenicidade e infecciosidade**

Em certos casos, pode ser necessário efetuar estudos complementares a fim de esclarecer melhor os efeitos adversos no ser humano.

Se, nomeadamente, os estudos prévios indicarem que o microrganismo pode causar efeitos a longo prazo na saúde, devem efetuar-se estudos sobre toxicidade, patogenicidade, infecciosidade, carcinogenicidade e toxicidade na reprodução crónicas. Além disso, se for produzida uma toxina, devem efetuar-se estudos cinéticos.

Os estudos exigidos devem ser concebidos caso a caso, tendo em conta os parâmetros específicos a investigar e os objetivos a atingir. Antes da realização destes estudos, o requerente deve obter o acordo das autoridades competentes quanto ao tipo de estudo a realizar.

5.4. **Estudos *in vivo* em células somáticas**

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Se todos os resultados dos estudos *in vitro* forem negativos, há que efetuar ensaios adicionais tendo em conta outros dados relevantes disponíveis. Os estudos podem ser *in vivo* ou *in vitro* e devem utilizar um sistema de metabolização diferente do ou dos anteriormente utilizados.

Si o teste citogenético *in vitro* for positivo, deve fazer-se um teste *in vivo* com células somáticas (análise de metáfase na medula óssea de roedores ou teste do micronúcleo em roedores).

Quando qualquer dos dois testes de mutação génica *in vitro* for positivo, deve efetuar-se um teste *in vivo* para deteção de síntese não programada de ADN, ou um teste das malhas («spot-test») no ratinho.

5.5. **Genotoxicidade — Estudos *in vivo* em células germinativas**

Objetivo e condições dos ensaios

Ver parte A, ponto 5.4.

Circunstâncias em que os ensaios são exigidos

Se o resultado de qualquer dos ensaios *in vivo* efetuados em células somáticas for positivo, pode justificar-se a realização de testes *in vivo* para a deteção de efeitos em células germinativas. A necessidade de realizar estes testes será avaliada caso a caso, tomando em consideração outros dados relevantes disponíveis, designadamente sobre a utilização e a exposição previsível. Os testes, para serem adequados, devem incluir a análise da interação com o ADN (tal como o ensaio de letalidade dominante), estudar possíveis efeitos hereditários e, eventualmente, proceder a uma avaliação quantitativa desses efeitos. Dada a sua grande complexidade, estes estudos quantitativos requerem uma forte justificação.

(FIM DA FASE II)

5.6. **Resumo da toxicidade, patogenicidade e infecciosidade em mamíferos e avaliação global**

Deve ser apresentado um resumo de todos os dados e informações apresentados nos termos dos pontos 5.1 a 5.5, incluindo uma avaliação crítica pormenorizada dos dados, no contexto dos critérios e normas relevantes de avaliação e decisão, em especial no que se refere aos riscos reais ou potenciais para o homem e os animais, e à quantidade, qualidade e fiabilidade dos dados de base.

▼B

Importa referir se a exposição de animais ou seres humanos tem quaisquer implicações em termos de vacinação ou monitorização serológica.

6. RESÍDUOS NO INTERIOR E À SUPERFÍCIE DE PRODUTOS, GÉNEROS ALIMENTÍCIOS E ALIMENTOS PARA ANIMAIS, TRATADOS

Introdução

i) As informações fornecidas, juntamente com as respeitantes a uma ou mais preparações que contenham o microrganismo, devem ser suficientes para permitir efetuar uma avaliação dos riscos para o ser humano e/ou os animais resultantes da exposição ao microrganismo e seus vestígios residuais e metabolitos (toxinas) que permanecem no interior ou à superfície dos vegetais ou produtos vegetais.

ii) Além disso, as informações fornecidas devem ser suficientes para:

— permitir uma decisão quanto à aprovação ou não do microrganismo,

— especificar as condições ou restrições adequadas a associar a uma eventual aprovação,

— se for caso disso, estabelecer limites máximos de resíduos, intervalos de segurança pré-colheita para proteger os consumidores e períodos de espera para proteger os trabalhadores que manuseiam as culturas e os produtos tratados.

iii) Para a avaliação dos riscos decorrentes dos resíduos, podem não ser exigidos dados experimentais sobre os níveis de exposição ao resíduo quando se possa provar que o microrganismo e os seus metabolitos não são perigosos para os seres humanos nas concentrações que podem ocorrer em resultado da utilização autorizada. Essa prova pode basear-se em publicações, na experiência prática e nas informações apresentadas nas secções 1, 2 e 3 e na secção 5.

6.1. **Persistência e probabilidade de multiplicação no interior ou à superfície de culturas, alimentos para animais ou géneros alimentícios**

Deve ser apresentada uma estimativa fundamentada da persistência/ /competitividade do microrganismo e metabolitos secundários relevantes (especialmente toxinas) no interior ou à superfície da cultura nas condições ambientais prevalecentes durante e após a utilização prevista, tendo em conta, em especial, as informações constantes da secção 2.

Além disso, o pedido deve indicar em que medida e em que base se considera que o microrganismo pode (ou não pode) multiplicar-se no interior ou à superfície do vegetal ou produto vegetal ou durante a transformação dos produtos agrícolas.

6.2. **Informações adicionais exigidas**

Os consumidores podem ser expostos aos microrganismos durante um período considerável devido ao consumo de produtos alimentares tratados; os efeitos potenciais para os consumidores devem, pois, ser obtidos através de estudos de efeitos crónicos ou semicrónicos, de forma a que possa ser estabelecido um parâmetro toxicológico, como, por exemplo, a determinação da DDA, para a gestão do risco.

6.2.1. *Resíduos não viáveis*

Um microrganismo não viável é um microrganismo que não está dotado de capacidade de replicação nem de transferência de material genético.

▼B

Se, em conformidade com os pontos 2.4 e 2.5, forem encontradas quantidades persistentes assinaláveis do microrganismo ou dos metabolitos produzidos, especialmente toxinas, serão necessários dados experimentais exaustivos sobre os resíduos, conforme previsto na parte A, secção 6, caso se espere que as concentrações do microrganismo e/ou das suas toxinas no interior ou à superfície de géneros alimentícios ou alimentos para animais, tratados, sejam superiores às verificadas em condições naturais ou num estado fenotípico diferente.

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 1107/2009, as conclusões respeitantes à diferença entre concentrações naturais e concentrações elevadas devidas ao tratamento com o microrganismo devem basear-se em dados obtidos experimentalmente e não em extrapolações ou cálculos com base em modelos.

Antes da realização destes estudos, o requerente deve obter o acordo das autoridades competentes quanto ao tipo de estudo a realizar.

6.2.2. *Resíduos viáveis*

Se as informações apresentadas em conformidade com o ponto 6.1 sugerirem a persistência de quantidades assinaláveis do microrganismo no interior ou à superfície de produtos, géneros alimentícios ou alimentos para animais, tratados, os possíveis efeitos para os seres humanos e/ou animais devem ser investigados, a não ser que se possa provar, no âmbito da secção 5, que o microrganismo e os seus metabolitos e/ou produtos de degradação não são perigosos para os seres humanos nas concentrações e no estado em que podem ocorrer em resultado da utilização autorizada.

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 1107/2009, as conclusões respeitantes à diferença entre concentrações naturais e concentrações elevadas devidas ao tratamento com o microrganismo devem basear-se em dados obtidos experimentalmente e não em extrapolações ou cálculos com base em modelos.

A persistência de resíduos viáveis requer especial atenção se as informações obtidas no âmbito dos pontos 2.3 e 2.5 ou da secção 5 revelarem qualquer infecciosidade ou patogenicidade para os mamíferos e/ou se quaisquer outras informações sugerirem um perigo para os consumidores e/ou trabalhadores. Nesse caso, as autoridades competentes podem exigir estudos semelhantes aos previstos na parte A.

Antes da realização destes estudos, o requerente deve obter o acordo das autoridades competentes quanto ao tipo de estudo a realizar.

6.3. **Resumo e avaliação do comportamento dos resíduos resultante dos dados apresentados nos pontos 6.1 e 6.2**

7. DESTINO E COMPORTAMENTO NO AMBIENTE

Introdução

i) As informações sobre origem, propriedades e sobrevivência do microrganismo e seus metabolitos residuais e a utilização pretendida constituem a base da avaliação do destino e comportamento no ambiente.

São geralmente exigidos dados experimentais a não ser que se possa provar que é possível avaliar o destino e comportamento do microrganismo no ambiente com base nas informações já disponíveis. Essa prova pode basear-se em publicações, na experiência prática e nas informações apresentadas nas secções 1 a 6. A função do microrganismo nos processos ambientais é de especial interesse.

ii) As informações fornecidas, juntamente com outras informações pertinentes, para uma ou mais preparações que contenham o microrganismo, devem ser suficientes para permitir avaliar o destino e comportamento do microrganismo, bem como dos seus vestígios residuais e toxinas, nos casos em que sejam significativos para a saúde humana e/ou o ambiente.

▼B

iii) Em especial, as informações fornecidas devem ser suficientes para:

— decidir se o microrganismo pode ser aprovado,

— especificar as condições ou restrições adequadas a associar a uma eventual aprovação,

— especificar os pictogramas (após introdução), as palavras-sinal e as advertências de perigo e recomendações de prudência relevantes no que se refere à proteção do ambiente, a incluir na embalagem (recipientes),

— prever a distribuição, destino e comportamento do microrganismo e seus metabolitos no ambiente, bem como a evolução temporal envolvida,

— identificar as medidas necessárias para minimizar a contaminação do ambiente e o impacto nas espécies não visadas.

iv) Devem ser caracterizados todos os metabolitos relevantes (que possam constituir motivo de preocupação para a saúde humana ou animal e/ou para o ambiente) formados pelo organismo testado em todas as condições ambientais pertinentes. Se estiverem presentes no microrganismo, ou forem por ele produzidos, metabolitos relevantes, podem ser exigidos os dados referidos na parte A, secção 7, se estiverem reunidas todas as condições seguintes:

— o metabolito relevante é estável fora do microrganismo (ver ponto 2.8), e

— o efeito tóxico do metabolito é independente da presença do microrganismo, e

— espera-se que o metabolito ocorra no ambiente em concentrações consideravelmente mais elevadas do que nas condições naturais.

v) Devem ser tidas em conta as informações disponíveis sobre a relação com tipos selvagens aparentados que ocorram naturalmente.

vi) Antes da realização dos estudos a seguir referidos, o requerente deve obter o acordo das autoridades competentes quanto à necessidade de realização dos estudos e, em caso favorável, quanto ao tipo de estudos a efetuar. Devem também ser tidas em conta as informações das outras secções.

7.1. **Persistência e multiplicação**

Se for caso disso, devem ser fornecidas informações adequadas sobre a persistência e a multiplicação do microrganismo em todos os compartimentos ambientais, exceto quando se possa provar que é improvável que um determinado compartimento ambiental seja exposto ao microrganismo. Deve dar-se especial atenção:

— à competitividade nas condições ambientais dominantes aquando do uso pretendido e após esse uso, e

— à dinâmica populacional em climas sazonal ou regionalmente extremos (especialmente verões quentes, invernos frios e precipitação) e às práticas agrícolas aplicadas após o uso pretendido.

▼B

Devem ser indicados os níveis estimados do microrganismo especificado num determinado período subsequente à utilização do produto nas condições propostas.

7.1.1. *Solo*

Devem ser dadas informações sobre a viabilidade/dinâmica populacional em solos cultivados e não cultivados representativos dos solos típicos das várias regiões da UE onde é feita, ou está prevista, a utilização. Devem ser seguidas as disposições relativas à seleção dos solos e colheita e manuseamento das amostras, em conformidade com a parte A, ponto 7.1. Se o organismo testado se destinar a ser utilizado em associação com outros meios – por exemplo, lã de rocha – esses meios devem ser incluídos nos ensaios.

7.1.2. *Água*

Devem ser comunicadas informações sobre a viabilidade/dinâmica populacional em sistemas naturais de sedimento/água, em condições de escuridão e de iluminação.

7.1.3. *Avião*

Caso existam motivos especiais de preocupação relativamente à exposição dos operadores, trabalhadores ou pessoas estranhas ao tratamento, podem ser necessárias informações sobre as concentrações no ar.

7.2. **Mobilidade**

Deve avaliar-se a possível propagação do microrganismo e dos seus produtos de degradação nos compartimentos ambientais relevantes, exceto quando se possa provar que é improvável que determinados compartimentos ambientais sejam expostos ao microrganismo. Nesse âmbito, a utilização pretendida (por exemplo, campo ou estufa, aplicação no solo ou nas culturas), as fases do ciclo de vida, incluindo a ocorrência de vetores, a persistência e a capacidade do organismo de colonizar habitats adjacentes são de especial interesse.

A propagação, a persistência e as distâncias prováveis de disseminação requerem especial atenção se tiverem sido comunicadas toxicidade, infecciosidade ou patogenicidade ou se quaisquer outras informações sugerirem possíveis riscos para os seres humanos, os animais ou o ambiente. Nesse caso, as autoridades competentes podem exigir estudos semelhantes aos previstos na parte A. Antes de efetuar esses estudos, o requerente deve obter a aprovação das autoridades competentes para o tipo de estudo a efetuar.

8. EFEITOS EM ORGANISMOS NÃO VISADOS

Introdução

i) As informações sobre a identidade e as propriedades biológicas e as outras informações previstas nas secções 1, 2, 3 e 7 são essenciais para a avaliação do impacto em espécies não visadas. A secção 7 contém informações adicionais úteis sobre o destino e comportamento no ambiente e a secção 6 sobre os níveis de resíduos nos vegetais que, juntamente com informações sobre a natureza da preparação e o seu modo de utilização, permitem definir a natureza e a extensão da exposição potencial. As informações apresentadas em conformidade com a secção 5 contêm aspetos essenciais sobre os efeitos nos mamíferos e os mecanismos envolvidos.

São geralmente exigidos dados experimentais, a não ser que se possa provar que as informações já disponíveis permitem avaliar os efeitos em organismos não visados.

ii) A escolha dos organismos não visados adequados para estudar os efeitos ambientais deve basear-se na identidade do microrganismo (incluindo a especificidade ao hospedeiro, o modo de ação e a ecologia do organismo). Essas informações permitirão

▼B

escolher os organismos de ensaio adequados, tais como organismos estreitamente relacionados com o organismo visado.

iii) As informações fornecidas, juntamente com as respeitantes a uma ou mais preparações que contenham o microrganismo, devem ser suficientes para permitir efetuar uma avaliação do impacto nas espécies não visadas (flora e fauna) com significância do ponto de vista ambiental e passíveis de se encontrarem em risco em resultado da exposição ao microrganismo. O impacto pode resultar de exposição única, prolongada ou repetida e pode ser reversível ou irreversível.

iv) Em especial, as informações fornecidas relativamente ao microrganismo, juntamente com outras informações pertinentes, bem como as fornecidas para uma ou mais preparações que o contenham, devem ser suficientes para:

— decidir se o microrganismo pode ser aprovado,

— especificar as condições ou restrições adequadas a associar a uma eventual aprovação,

— permitir uma avaliação dos riscos a curto e a longo prazo para as espécies não visadas — populações, comunidades e processos — conforme adequado,

— classificar o microrganismo quanto ao perigo biológico,

— especificar as precauções a adotar para a proteção das espécies não visadas, e

— especificar os pictogramas (após introdução), as palavras-sinal e as advertências de perigo e recomendações de prudência relevantes no que se refere à proteção do ambiente, a incluir na embalagem (recipientes).

v) É necessário comunicar todos os efeitos potencialmente adversos observados durante os estudos de rotina sobre os efeitos ambientais e realizar e comunicar, quando seja exigido pelas autoridades competentes, os estudos adicionais que possam ser necessários para pesquisar os mecanismos prováveis envolvidos e avaliar a significância desses efeitos. Devem ser comunicados todos os dados biológicos e informações disponíveis importantes para a avaliação do perfil ecológico do microrganismo.

vi) Em todos os estudos deve ser indicada a dose média obtida, expressa em UFC/kg de peso corporal ou noutras unidades adequadas.

vii) Pode ser necessário realizar estudos separados com os metabolitos relevantes (especialmente toxinas) quando estes possam constituir um risco significativo para os organismos não visados e quando os seus efeitos não possam ser avaliados através dos resultados disponíveis relativos ao microrganismo. Antes da realização desses estudos, o requerente deve obter o acordo das autoridades competentes quanto à necessidade de realização dos estudos e, em caso favorável, quanto ao tipo de estudos a efetuar. Devem também ser tidas em conta as informações das secções 5, 6 e 7.

▼B

viii) A fim de facilitar a avaliação da significância dos resultados obtidos nos ensaios, deve ser, sempre que possível, utilizada nos vários ensaios especificados a mesma estirpe (ou origem registada) de cada espécie relevante.

ix) Devem ser efetuados ensaios a não ser que se possa provar que o organismo não visado não será exposto ao microrganismo. Se se provar que o microrganismo não provoca efeitos tóxicos ou não é patogénico ou infeccioso para os vertebrados ou os vegetais, apenas deve ser investigada a reação a organismos não visados adequados.

8.1. **Efeitos em aves**

Objetivo dos ensaios

Devem ser comunicadas informações sobre a toxicidade, a infecciosidade e a patogenicidade para as aves.

8.2. **Efeitos em organismos aquáticos**

Objetivo dos ensaios

Devem ser comunicadas informações sobre a toxicidade, a infecciosidade e a patogenicidade para os organismos aquáticos.

8.2.1. *Efeitos em peixes*

Objetivo dos ensaios

Devem ser comunicadas informações sobre a toxicidade, a infecciosidade e a patogenicidade para os peixes.

8.2.2. *Efeitos em invertebrados de água doce*

Objetivo dos ensaios

Devem ser comunicadas informações sobre a toxicidade, a infecciosidade e a patogenicidade para os invertebrados de água doce.

8.2.3. *Efeitos no crescimento das algas*

Objetivo dos ensaios

Devem ser comunicadas informações sobre os efeitos no crescimento das algas, taxa de crescimento e capacidade de recuperação.

8.2.4. *Efeitos em vegetais que não as algas*

Objetivo dos ensaios

Devem ser comunicadas informações sobre os efeitos nos vegetais que não as algas.

8.3. **Efeitos em abelhas**

Objetivo dos ensaios

Devem ser comunicadas informações sobre a toxicidade, a infecciosidade e a patogenicidade para as abelhas.

8.4. **Efeitos em artrópodes, excluindo as abelhas**

Objetivo dos ensaios

Devem ser comunicadas informações sobre a toxicidade, a infecciosidade e a patogenicidade para os artrópodes que não as abelhas. A

▼B

seleção das espécies de ensaio deve estar relacionada com a utilização potencial dos produtos fitofarmacêuticos (por exemplo, aplicação foliar ou no solo). Deve ser dada especial atenção aos organismos utilizados para o controlo biológico e aos organismos que desempenham um papel importante na proteção integrada.

8.5. **Efeitos em minhocas**

Objetivo dos ensaios

Devem ser comunicadas informações sobre a toxicidade, a infecciosidade e a patogenicidade para as minhocas.

8.6. **Efeitos em microrganismos do solo não visados**

Deve ser comunicado o impacto em microrganismos não visados relevantes e respetivos predadores (por exemplo, protozoários para inoculantes bacterianos). É necessário um parecer de peritos para decidir se são necessários estudos adicionais. Essa decisão deve ter em consideração as informações disponíveis no âmbito da presente e de outras secções, nomeadamente dados sobre a especificidade do microrganismo e a exposição esperada. As observações efetuadas aquando da realização de ensaios de eficácia podem também ser úteis. Deve ser dada especial atenção aos organismos utilizados na proteção integrada das culturas.

8.7. **Ensaios adicionais**

Os estudos adicionais podem incluir estudos de efeitos agudos em espécies ou sistemas adicionais (tais como redes de esgotos) ou estudos de nível mais elevado, tais como estudos de efeitos crónicos, subletais ou na reprodução em organismos não visados selecionados.

Antes da realização destes estudos, o requerente deve obter o acordo das autoridades competentes quanto ao tipo de estudo a realizar.

9. RESUMO E AVALIAÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL

O resumo e a avaliação de todos os dados de interesse para o impacto ambiental devem ser efetuados em conformidade com as orientações dadas pelas autoridades competentes dos Estados-Membros quanto à respetiva apresentação. Tais resumos e avaliações devem incluir uma análise crítica e pormenorizada dos dados no contexto dos critérios e diretrizes pertinentes para a avaliação e a tomada de decisões, em particular no que se refere aos riscos reais ou potenciais para o ambiente e as espécies não visadas e quanto à extensão, qualidade e fiabilidade dos dados existentes. Devem, em particular, ser tidos em conta os seguintes aspetos:

— distribuição e destino no ambiente e a evolução temporal envolvida,

— identificação de espécies não visadas e populações em risco e extensão da sua exposição potencial,

— identificação das precauções necessárias para evitar ou minimizar a contaminação do ambiente para a proteção das espécies não visadas.