

31994L0040

L 208/15

ÚŘEDNÍ VĚSTNÍK EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ

11.8.1994

SMĚRNICE KOMISE 94/40/ES**ze dne 22. července 1994,****kteřou se mění směrnice Rady 87/153/EHS, kterou se stanoví hlavní zásady pro vyhodnocování doplňkových látek ve výživě zvířat**

KOMISE EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ,

s ohledem na Smlouvu o založení Evropského společenství,

s ohledem na směrnici Rady 70/524/EHS ze dne 23. listopadu 1970 o doplňkových látkách v krmivech ⁽¹⁾, naposledy pozměněnou směrnicí Komise 94/17/ES ⁽²⁾, a zejména na čl. 9 odst. 2 uvedené směrnice,vzhledem k tomu, že směrnice 70/524/EHS předpokládá stanovení hlavních zásad pro vyhodnocování doplňkových látek ve výživě zvířat, které byly přijaty směrnicí Rady 87/153/EHS ⁽³⁾, a jejich případné změny v důsledku vývoje vědeckotechnických poznatků;

vzhledem k tomu, že je nutné tyto hlavní zásady doplnit o kritéria pro vyhodnocování žádostí o povolení mikroorganismů a enzymů jako doplňkových látek v krmivech;

vzhledem k tomu, že podle ustanovení směrnice Rady 93/114/ES ⁽⁴⁾ je nutné začlenit do postupu Společenství při povolování doplňkových látek ustanovení směrnice Rady 90/220/EHS ze dne 23. dubna 1990 o záměrném uvolňování geneticky modifikovaných organismů do životního prostředí ⁽⁵⁾, ve znění směrnice Komise 94/15/ES ⁽⁶⁾, týkající se zvláštního vyhodnocování rizik pro životní prostředí tak, aby tato ustanovení byla použitelná na všechny doplňkové látky, složené z geneticky modifikovaných organismů nebo tyto organismy obsahující; že z toho důvodu by měla být pozměněna směrnice 87/153/EHS tak, aby byla v souladu s požadavky směrnice 90/220/EHS;

vzhledem k tomu, že jde o značný počet změn, jeví se užitečným uvést v příloze této směrnice hlavní zásady v úplném znění;

vzhledem k tomu, že opatření této směrnice jsou v souladu se stanoviskem Stálého výboru pro krmiva,

PŘIJALA TUTO SMĚRNICI:

Článek 1

Příloha směrnice 87/153/EHS se nahrazuje přílohou této směrnice.

Článek 2

Členské státy uvedou v účinnost právní a správní předpisy nezbytné pro dosažení souladu s touto směrnicí nejpozději do 1. října 1994. Neprodleně o nich uvědomí Komisi.

Tato opatření přijatá členskými státy musí obsahovat odkaz na tuto směrnici nebo musí být takový odkaz učiněn při jejich úředním vyhlášení. Způsob odkazu si stanoví členské státy.

Článek 3V Tato směrnice vstupuje v platnost dvacátým dnem po vyhlášení v *Úředním věstníku Evropských společenství*.

Bruselu dne 22. července 1994.

Za Komisi

René STEICHEN

člen Komise

⁽¹⁾ Úř. věst. L 270, 14.12.1970, s. 1.⁽²⁾ Úř. věst. L 105, 26.4.1994, s. 19.⁽³⁾ Úř. věst. L 64, 7.3.1987, s. 19.⁽⁴⁾ Úř. věst. L 334, 31.12.1993, s. 24.⁽⁵⁾ Úř. věst. L 117, 8.5.1990, s. 15.⁽⁶⁾ Úř. věst. L 103, 22.4.1994, s. 20.

PŘÍLOHA

HLAVNÍ ZÁSADY PRO VYHODNOCOVÁNÍ DOPLŇKOVÝCH LÁTEK VE VÝŽIVĚ ZVÍŘAT

OBEČNÁ USTANOVENÍ

Tyto hlavní zásady slouží jako vodítko pro vypracování dokumentace k látkám a přípravkům, pro něž se žádá povolení jako doplňkové látky v krmivech. Dokumentace musí umožnit vyhodnocení doplňkové látky na základě současného stavu vědomostí a ověření, že odpovídá základním zásadám stanoveným pro jejich přijetí, které jsou obsaženy v ustanoveních čl. 7 odst. 2 směrnice 70/524/EHS.

Vedle zkoušek uvedených v těchto hlavních zásadách mohou být popřípadě vyžadovány i doplňující údaje. V zásadě musí být provedeny zkoušky identity, podmínek použití, fyzikálně-chemických vlastností, metod kontroly, účinnosti doplňkové látky, jejího metabolismu, biologických a toxikologických účinků na cílové druhy zvířat. Pokud je doplňková látka určena kategorii zvířat určitého druhu, musí být zkoušky prováděny na tomto cílovém druhu zvířat. Zkoušky nezbytné k vyhodnocení rizik pro lidské zdraví a životní prostředí závisí zejména na druhu doplňkové látky a podmínkách jejího použití. V tomto směru není stanoveno žádné přesné pravidlo.

Není vždy nutné podrobovat doplňkové látky určené pouze do krmiv pro domácí zvířata tak zevrubným zkouškám chronické toxicity, mutagenity a karcinogenity, jaké jsou vyžadovány u doplňkových látek určených pro krmení užitkových zvířat, jejichž produkty jsou určeny k lidské spotřebě. Pro stanovení chronické toxicity obecně postačují zkoušky uskutečněné v průběhu jednoho roku na dvou cílových druzích zvířat nebo na jednom cílovém druhu a na potkanech. Obecně může být upuštěno od zkoušek mutagenity a karcinogenity v případě, že chemické složení ani praktické výsledky či jiné podklady nenaznačují možnost změn. U domácích zvířat je možno upustit od rozboru reziduí.

Důležitá je znalost metabolismu doplňkových látek u užitkových zvířat, reziduí a jejich biologické využitelnosti. Na základě těchto znalostí musí být možné určit zejména rozsah toxikologických zkoušek na laboratorních zvířatech s cílem vyhodnocení možných rizik pro spotřebitele. Toto vyhodnocení nemůže být v žádném případě založeno na údajích omezujiících se jen na přímé účinky doplňkové látky na laboratorní zvířata. Takové údaje by neposkytly specifické informace o skutečných účincích reziduí přecházejících z metabolismu druhu zvířat, pro který je doplňková látka určena.

Každá žádost o povolení doplňkové látky nebo nového užití doplňkové látky musí být podložena dokumentací složenou z podrobných zpráv, které jsou uspořádány v pořadí a očíslovány v souladu s hlavními zásadami. Chybí-li v dokumentaci kterýkoli požadovaný údaj, je třeba to odůvodnit. Publikace citované v odkaze musí být přiloženy. Zprávy o testech musí obsahovat plán, referenční číslo testu, počáteční a konečné datum testu, jejich podrobný popis, výsledky a jejich rozbor, jméno, adresu a podpis osoby odpovědné za zkoušku. U každé šarže krmiv použitých při testování na zvířatech musí být proveden rozbor koncentrace příslušných aktivních látek při použití vhodné metody a přiložena zpráva o výsledcích rozboru. Tato zpráva musí obsahovat kromě jednotlivých dávek naměřených při každém testu také datum testu, jméno, adresu a podpis osoby odpovědné za kontrolu. Ke zprávám musí být přiloženo osvědčení laboratoře nebo laboratoří, které testy prováděly, o tom, že testy byly provedeny podle zásad správné laboratorní praxe v souladu se směrnicí Rady 87/18/EHS ze dne 18. prosince 1986 o harmonizaci právních a správních předpisů týkajících se používání zásad správné laboratorní praxe a ověřování jejich používání při zkouškách chemických látek. ⁽¹⁾

Fyzikálně-chemické, toxikologické a ekotoxikologické vlastnosti se určí s pomocí postupů stanovených směrnicí Rady 67/548/EHS ze dne 27. června 1967 o sblížení právních a správních předpisů týkajících se klasifikace, balení a označování nebezpečných látek ⁽²⁾, naposledy pozměněnou směrnicí Komise 93/105/ES ⁽³⁾, nebo s pomocí postupů mezinárodně uznávaných vědeckými institucemi. Použití jiných postupů musí být odůvodněno.

⁽¹⁾ Úř. věst. L 15, 17.1.1987, s. 29.

⁽²⁾ Úř. věst. L 196, 16.8.1967, s. 1.

⁽³⁾ Úř. věst. L 294, 30.11.1993, s. 21.

Každá dokumentace má obsahovat odpovídající souhrn. Dokumentace k antibiotikům, kokcidiostaticům a jiným léčebným látkám, stimulatorům růstu, mikroorganismům a/nebo enzymatickým přípravkům musí být kromě toho doplněna monografií vypracovanou podle vzoru uvedeného v kapitole V, která umožňuje identifikovat a charakterizovat příslušnou doplňkovou látku v souladu s ustanoveními čl. 8 odst. 1 směrnice 70/524/EHS.

V těchto hlavních zásadách se termín „doplňková látka“ vztahuje na aktivní látky nebo přípravky obsahující aktivní látky ve stavu, v jakém budou zapracovány do premixů a krmiv. Aktivní látkou může být chemicky definovaná látka, mikroorganismus nebo enzymatický přípravek.

V těchto hlavních zásadách se výrazem „chemicky definovaná látka“ rozumí látky, kterým je přidělen chemický název podle nomenklatury Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii (IUPAC).

Jakákoli změna ve výrobním postupu, složení doplňkové látky, oblasti jejího využití nebo podmínek jejich použití musí být v přiměřené době oznámena Komisi členskými státy, který jí předal dokumentaci. To může vyžadovat předložení patřičné dokumentace pro nové vyhodnocení. Takovéto požadavky budou nezbytné zvláště u produktů získaných z mikroorganismů, jejichž genetické znaky byly změněny nebo které se vyskytují ve formě přirozených mutantů.

OBSAH

KAPITOLA I	Souhrn údajů z dokumentace
KAPITOLA II	Identita, vlastnosti a podmínky použití doplňkové látky Metody kontroly
KAPITOLA III	Zkoušky účinnosti doplňkové látky <ol style="list-style-type: none">1. Zkoušky zaměřené na zlepšení vlastností krmiv2. Zkoušky vlivu doplňkové látky na živočišnou výrobu3. Zkoušky zaměřené na jakost produktů živočišného původu
KAPITOLA IV	Zkoušky bezpečnosti užití doplňkových látek <ol style="list-style-type: none">1 Zkoušky na cílových druzích zvířat<ol style="list-style-type: none">1.1 Toxikologické zkoušky doplňkové látky1.2 Mikrobiologické zkoušky doplňkové látky1.3 Zkoušky metabolismu a reziduí2. Zkoušky vyloučených reziduí3. Zkoušky na laboratorních zvířatech
KAPITOLA V	Vzor monografie

KAPITOLA I

SOUHRN ÚDAJŮ Z DOKUMENTACE

KAPITOLA II

IDENTITA, VLASTNOSTI A PODMÍNKY POUŽITÍ DOPLŇKOVÉ LÁTKY —METODY KONTROLY

1. Identita doplňkové látky

- 1.1 Navrhovaný obchodní název.
- 1.2 Typ doplňkové látky s ohledem na její hlavní funkci.
- 1.3 Kvalitativní a kvantitativní složení (aktivní látka, jiné komponenty, nečistoty).
- 1.4 Fyzikální vlastnosti, velikost částic.
- 1.5 Výrobní proces, včetně zvláštních výrobních postupů

Poznámka Pokud je aktivní látka směsí aktivních složek jednotlivě chemicky definovatelných, musí být každá hlavní složka popsána odděleně a musí být uvedeno její procentické složení ve směsi.

2. Specifikace aktivní látky

- 2.1 U chemicky definovaných látek: druhový název, chemické označení podle nomenklatury IUPAC, další mezinárodní druhové názvy a zkratky. Číslo CAS (Chemical Abstract Service Number).

U mikroorganismů: název a taxonomický popis podle mezinárodních nomenklaturních kódů. Rovněž mohou být použity další mezinárodně uznávané klasifikace ⁽¹⁾.

U enzymatických přípravků: název v souladu s hlavní enzymatickou aktivitou podle IUB/IUPAC, EINECS a CAS.

- 2.2 Empirický a strukturální vzorec, molekulová hmotnost. Kvalitativní a kvantitativní složení hlavních komponentů, je-li aktivní látka produktem fermentačního procesu.

U mikroorganismů: název a místo sbírky kultur, kde je kmen uložen, pokud možno ze sbírky kultur Evropského společenství, depozitní číslo, pod kterým je kmen uložen, genetické modifikace a všechny vlastnosti důležité pro jeho identifikaci. Dále původ, morfologické a fyziologické vlastnosti, vývojová stadia, důležité faktory, které mohou ovlivnit biologickou činnost mikroorganismu (jako doplňkové látky) a další genetické údaje pro jeho identifikaci. Počet jednotek tvořících kolonie (CFU) na 1 gram.

U enzymatických přípravků: biologický původ (v případě mikrobiologického původu: název a místo sbírky kultur, kde je kmen uložen, pokud možno sbírky kultur Evropského společenství, depozitní číslo, pod kterým je kmen uložen, genetické modifikace a všechny vlastnosti důležité pro jeho identifikaci, včetně genetických dat), aktivity týkající se chemicky čistých modelových substrátů a další fyzikální a chemické vlastnosti.

2.3 Stupeň čistoty

Kvalitativní a kvantitativní složení nečistot.

U mikroorganismů: genetická stabilita a čistota kultivovaných kmenů.

U enzymatických přípravků:

- čistota měřená úrovní mikrobiální kontaminace, těžké kovy, nepřítomnost toxinů pocházejících ze zdroje organismu (např. mykotoxiny), prokázaná vhodnou metodou,
- absence antimikrobiální aktivity při úrovni dávkování krmiva, prokázaná vhodnou metodou,
- složení komponentů neenzymatického původu (zejména veškeré organické hmoty TOS ⁽²⁾)

2.4 Důležité vlastnosti

U chemických definovaných látek: elektrostatické vlastnosti, bod tání, bod varu, teplota rozkladu, hustota, tlak par, rozpustnost ve vodě a v organických rozpouštědlech, hmotové a absorpční spektrum a jakékoli jiné důležité fyzikální vlastnosti.

⁽¹⁾ Např. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Yeasts, a taxonomic study* od Loddera a Kregera van Rij, *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi* od Hawkswortha, Suttona a Ainswortha nebo *The Genus Aspergillus* od Raper a Fennella.

⁽²⁾ TOS (%) = 100 — (% popele + % vody + % ředidla a/nebo doplňkových látek a složek).

U mikroorganismů: vlastnosti důležité pro identifikaci a pro navržené užití (např. vegetativní nebo sporulující forma, CFU na gram).

U enzymatických přípravků: optimální hodnoty pH, optimální teplota(y) a další důležité vlastnosti.

2.5 Výrobní a čistící procesy a užitá media

Změny složení dávek v průběhu výroby.

3. Fyzikálně-chemické, technologické a biologické vlastnosti doplňkové látky

3.1 Stabilita (u mikroorganismů ztráta biologické aktivity, např. životaschopnosti) při působení podmínek vnějšího prostředí jako je světlo, teplota, pH, vlhkost a kyslík. Doba skladování.

3.2 Stabilita (u mikroorganismů ztráta biologické aktivity, např. životaschopnosti) během výroby premixů a krmiv, zejména termostabilita, stabilita vůči tlaku a vlhkosti. Případné produkty rozkladu.

3.3 Stabilita (u mikroorganismů ztráta biologické aktivity, např. životaschopnosti) během skladování premixů a krmiv za stanovených podmínek. Doba skladování.

U enzymatických přípravků: informace o přítomnosti neočekávaných produktů vznikajících při enzymatických nebo chemických reakcích enzymatického přípravku se složkami krmiva nebo degradací enzymatického přípravku během skladování krmiva.

3.4 Další důležité fyzikálně-chemické, technologické nebo biologické vlastnosti, zejména schopnost vytvářet homogenní směsi v premixech a krmivech, vlastnosti týkající se prašnosti a u mikroorganismů a/nebo enzymatických přípravků stanovení odolnosti proti degradaci nebo ztrátě biologické aktivity přímo v trávicím traktu nebo simulací *in vitro*.

3.5 Fyzikálně-chemické či biologické nesnášenlivosti nebo interakce (např. s krmivy, jinými povolenými doplňkovými látkami nebo léčebnými látkami).

4. Podmínky použití doplňkové látky

4.1 Navržené použití ve výživě zvířat (např. druh nebo kategorie zvířat, typ krmiva, fáze podávání, doba vyřazení — ochranná lhůta).

4.2 *Kontraindikace.*

4.3 Navržené dávkování v premixech a krmivech:

— u chemicky definovaných látek je obsah aktivní látky vyjádřen u premixů v procentech jejich váhy a v mg/kg u krmiv,

— je u mikroorganismů vyjádřeno v příslušných jednotkách biologické účinnosti jako CFU na gram produktu a u enzymatických přípravků v příslušných jednotkách účinnosti.

4.4 Další známé způsoby použití aktivní látky nebo přípravku (v potravinách, v humánní nebo veterinární medicíně, v zemědělství a v průmyslu). Pro každý způsob použití se uvedou obchodní názvy, indikace a kontraindikace produktu.

4.5 Pokud je to nutné, preventivní opatření proti rizikům a ochranné prostředky při výrobě a manipulaci.

5. Metody kontroly

5.1 Popis použitých metod pro určení kritérií uvedených v bodech 1.3, 2.3, 2.4, 2.5, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 a 4.3.

5.2 Popis kvalitativních a kvantitativních analytických metod pro obvyklou kontrolu doplňkové látky v premixech a krmivech.

5.3 Popis kvalitativních a kvantitativních analytických metod pro stanovení reziduí doplňkových látek v živočišných produktech.

Poznámka Popis použitých metod a výsledky musí být doloženy údaji o procentickém obsahu, specifčnosti, citlivosti, limitech detekce, možných interferencích, reprodukovatelnosti a způsobu vzorkování. Referenční standardy přípravků a aktivních látek musí být k dispozici.

U mikroorganismů se uvedou metody detekce, výpočtu, identifikace a vhodného označení.

KAPITOLA III

ZKOUŠKY ÚČINNOSTI DOPLŇKOVÉ LÁTKY

1. Zkoušky zaměřené na zlepšení vlastností krmiv

Tyto zkoušky se týkají technologických doplňkových látek, jako jsou antioxidanty, konzervanty, pojiva, emulgátory, stabilizátory, želírující látky atp., které jsou určeny ke zlepšení nebo stabilizaci vlastností premixů a krmiv. Mezi technologické doplňkové látky se zařazují rovněž některé mikroorganismy a/nebo enzymatické přípravky, pokud zlepšují vlastnosti krmiva.

Účinnost doplňkové látky je nutno prokázat pomocí vhodných kritérií s přihlédnutím k předpokládaným podmínkám užití v porovnání s negativní kontrolní skupinou krmiv a popřípadě s krmivou obsahujícími technologické doplňkové látky, jejichž účinnost je známa.

Pro každou zkoušku je nutno uvést přesný původ zkoušených aktivních látek, přípravků, premixů a krmiv, referenční číslo šarží, koncentraci aktivní látky v premixech a krmivech, podmínky zkoušek (teplotu, vlhkost atd.), data a dobu trvání zkoušek, nepříznivé účinky a jiné negativní jevy, které se objevily v průběhu zkoušek.

2. Zkoušky vlivu doplňkové látky na živočišnou výrobu

Tyto zkoušky se týkají zootechnických doplňkových látek, které ovlivňují živočišnou výrobu. Následující zkoušky, zahrnující též vztah mezi vyšší dávkou a její odpovědí, se provedou na každém cílovém druhu zvířat v porovnání s negativními kontrolními skupinami a popřípadě se skupinami zvířat, kterým jsou podávána krmiva obsahující doplňkové látky, jejichž účinnost je známa.

Pokud je aktivní látka směsí aktivních složek, musí být vyhodnocena přítomnost každé jednotlivé složky.

2.1 U kokcidiostatik a jiných léčebných látek by měl být na prvním místě kladen důraz na jejich specifické účinky, zejména profylaktické (např. nemocnost, počet oocyst, výskyt chorobných změn). Údaje o vlivu na konverzi krmiva, růst zvířat, obchodovatelné množství a jakost živočišných produktů mohou být připojeny.

2.2 U ostatních zootechnických doplňkových látek (zahrnujících případně i mikroorganismy a/nebo enzymatické přípravky) by měly být poskytnuty údaje o vlivu na nutriční účinnost, růst zvířat, užítkovost a vlastnosti živočišného produktu, spokojenou existenci zvířat a další ukazatele, které příznivě ovlivňují živočišnou výrobu.

2.3 Pokusné podmínky:

Pro každý provedený pokus musí být předložen jeho popis a podrobné výsledky. Je třeba vypracovat zprávu o statistické analýze a použitých metodách. Musí být uvedeny následující údaje:

2.3.1 druh, plemeno, věk a pohlaví zvířat, jejich způsob označení;

2.3.2 počet pokusných a kontrolních skupin, počet zvířat v každé skupině; počet zvířat obou pohlaví musí být dostačující pro účely statistické analýzy;

2.3.3 koncentrace aktivní látky (a případných látek použitých ke srovnávacím účelům), které byly stanoveny kontrolní analýzou s použitím uznávaných metod; referenční číslo použitých šarží; kvalitativní a kvantitativní nutriční složení krmné dávky;

2.3.4 místo každého pokusu, fyziologický a zdravotní stav zvířat, výživářské a chovatelské podmínky podle obvyklé praxe používané ve Společenství; kontrola krmiv a preventivní opatření proti kontaminaci kontrolních skupin během pokusu (a zejména proti křížové kontaminaci krmiv mikroorganismy);

2.3.5 datum a přesná doba trvání pokusů, datum a druh provedených zkoušek;

2.3.6 nepříznivé účinky a jiné negativní skutečnosti, které se objevily v průběhu pokusů s uvedením času jejich výskytu.

3. Zkoušky zaměřené na jakost produktů živočišného původu

Zkouška organoleptických, nutričních, hygienických a technologických vlastností produktů pocházejících ze zvířat, jimž byla podávána krmiva obsahující doplňkovou látku.

KAPITOLA IV

ZKOUŠKY BEZPEČNOSTI UŽITÍ DOPLŇKOVÉ LÁTKY

Zkoušky uvedené v této kapitole jsou určeny k vyhodnocení:

- bezpečnosti užití doplňkové látky pro cílový druh zvířat,
- rizik pro osoby manipulující s doplňkovou látkou jako takovou nebo při zapracování do premixů nebo krmiv, vznikajících při jejím vdechování či zasažení kůže, sliznice nebo očí,
- rizik pro spotřebitele, která mohou vyplývat z konzumace potravin obsahujících rezidua doplňkové látky nebo jejích metabolitů,
- rizik znečištění životního prostředí doplňkovou látkou jako takovou nebo produkty odvozenými z doplňkové látky, které jsou vyměšovány zvířaty nebo rizik jejich přetrvávání v životním prostředí,
- možných rizik pro jiná než cílová zvířata.

Provedení těchto zkoušek se požaduje buď v jejich celkovém rozsahu, nebo částečně v závislosti na povaze doplňkové látky a na navrhovaných podmínkách jejího užití.

Hlavní zásadou u mikroorganismů a/nebo enzymatických přípravků nebo přípravků odvozených z mikroorganismů musí být, že nejsou patogenní a toxické pro cílový druh zvířat a pro lidi za předpokládaných podmínek užití.

V případě mikroorganismů a/nebo enzymatických přípravků musí být provedeny vhodné testy bezpečnosti, pokud není doložena jiná uspokojující dokumentace o jejich bezpečném užití. U mikroorganismů musí být proveden alespoň jeden test tolerance na cílovém druhu.

Toxikologické testy u enzymů odvozených z jedlých částí zvířat nebo rostlin nejsou v zásadě vyžadovány. Naproti tomu mohou být požadovány určité toxikologické zkoušky, pokud tyto produkty nejsou považovány za obvyklou součást krmné dávky.

Je-li aktivní látka chemicky definována, je znalost jejího metabolismu u různých cílových druhů, složení a biologické využitelnosti tkáňových reziduí důležitá pro stanovení rozsahu zkoušek na laboratorních zvířatech k vyhodnocení rizik pro spotřebitele. Kromě toho znalost složení a fyzikálně-chemických a biologických vlastností vyměšovaných reziduí pocházejících z doplňkové látky bude nezbytná pro stanovení rozsahu zkoušek nutných k vyhodnocení rizik přetrvávání v životním prostředí nebo jeho znečištění.

1. Zkoušky na cílových druzích zvířat

1.1 Toxikologické zkoušky doplňkové látky

Testy tolerance.

Při testech se sledují biologické, toxikologické, makroskopické a histologické účinky. Stanovení rozpětí bezpečnosti mezi nejvyšší doporučenou dávkou a dávkou, při které nastupují škodlivé účinky. Je-li prokázáno, že dávka vyvolávající škodlivé účinky daleko přesahuje nejvyšší navrhované dávkování, může být hodnota tohoto rozpětí určena jako minimální nebo přibližná.

1.2 Mikrobiologické zkoušky doplňkové látky

1.2.1 V případě aktivní chemicky definované látky, která vykazuje antimikrobiální účinky v koncentracích, ve kterých je přítomna v krmivu, musí být provedeny zkoušky antibakteriálního spektra doplňkové látky stanovením minimální inhibiční koncentrace (MIK) u různých patogenních a nepatogenních gramnegativních a grampozitivních druhů bakterií.

1.2.2 Zkoušky křížové rezistence k léčebným antibiotikům stanovením minimální inhibiční koncentrace u mutantů produkovaných *in vitro*, které vykazují chromozomální rezistenci vůči doplňkové látce. U těchto mikroorganismů, které jsou rezistentní vůči léčebným antibiotikům, musí být objasněn genetický základ rezistence.

1.2.3 Zkoušky zaměřené na stanovení schopnosti doplňkové látky působit jako selekční rezistenční faktor. Tyto zkoušky se provádějí za provozních podmínek na těch druzích zvířat, pro které je doplňková látka v první řadě určena. Následně se musí stanovit, zda R faktory, které mohou být případně nalezeny, jsou nositeli vícenásobné rezistence a zda jsou přenosné.

1.2.4 Zkoušky zaměřené na stanovení účinků doplňkové látky na:

- na mikrofloru trávicí soustavy,
- na kolonizaci trávicí soustavy jedním nebo směsí několika kmenů mikroorganismů,
- uvolňování nebo vylučování patogenních mikroorganismů, pokud aktivní chemicky definovaná látka vykazuje antimikrobiální aktivitu.

1.2.5 V případech, kdy aktivní látka vykazuje antimikrobiální aktivitu, musí být provedeny terénní studie monitorující procentuální podíl bakterií rezistentních vůči doplňkové látce. Tyto studie musejí být prováděny ve větších časových odstupech, před podáváním, v jeho průběhu i po podávání (1 měsíc) doplňkové látky.

1.2.6 Je-li aktivní látkou mikroorganismus, mělo by být stanoveno, je-li rezistentní vůči antibiotikům.

1.2.7 V případě, že aktivní látku vytváří mikroorganismus (např. enzymatické přípravky), musí být stanoven odpovídající počet živých mikroorganismů.

1.2.8 V případě, že doplňková látka obsahuje geneticky modifikované organismy nebo se z nich skládá ve smyslu čl. 2 odst. 1 a 2 směrnice Rady 90/220/EHS, musí být poskytnuty následující informace:

- kopie všech písemných souhlasů od příslušných orgánů k uvolnění geneticky modifikovaných organismů do životního prostředí pro účely výzkumu a vývoje v souladu s čl. 6 odst. 4 směrnice 90/220/EHS a resumé notifikace uvedené v článku 9 uvedené směrnice, vypracované podle vzoru v příloze rozhodnutí Rady 91/596/EHS ⁽¹⁾,
- kompletní technická dokumentace obsahující: informace požadované v příloze II směrnice 90/220/EHS, rozšířená podle potřeby o zohlednění různých míst užití doplňkové látky; informace o údajích a výsledcích, které byly získány při uvolnění pro výzkumné a vývojové účely a které se týkají ekosystémů, jež by mohly být používáním doplňkové látky ovlivněny; posouzení rizik pro zdraví lidí a zvířat a pro životní prostředí spojených s GMO obsaženými v produktu, včetně informací získaných ve stadiu výzkumu a vývoje o vlivu uvolnění na lidské zdraví a životní prostředí,
- podmínky pro uvádění doplňkové látky na trh, včetně zvláštních podmínek pro použití a manipulaci a návrh na označování a balení, který přinejmenším odpovídá požadavkům stanoveným v příloze III směrnice 90/220/EHS.

Pokud na základě notifikovaného uvolnění podle části B směrnice 90/220/EHS nebo ze zásadních vědecky podložených důvodů osoba odpovědná za dokumentaci usoudí, že uvedení doplňkové látky do oběhu nebo její užití nepředstavuje žádné riziko pro zdraví lidí a zvířat ani životní prostředí, může požádat, aby byla zproštěna splnění jednoho nebo několika požadavků uvedených v příloze III B.

Veškeré informace o údajích nebo výsledcích získaných při uvolnění stejných geneticky modifikovaných organismů nebo stejné kombinace geneticky modifikovaných organismů, které osoba odpovědná za dokumentaci již dříve nebo v současné době notifikovala a/nebo uskutečnila uvnitř nebo vně Společenství, musí být obsaženy.

Lze se též odvolat na údaje nebo výsledky uvedené v notifikacích, které již dříve předložily jiné osoby, pokud tyto osoby k tomu daly písemný souhlas.

1.3 Zkoušky metabolismu a reziduí ⁽²⁾ ⁽³⁾ (je-li aktivní látka chemicky definovaná)

1.3.1 Zkouška metabolismu

- metabolická bilance: poměr a rozsah absorbované a vyloučené aktivní látky,
- identifikace metabolických procesů a hlavních metabolitů,
- distribuce a vylučování metabolitů (žlučí, močí, výkaly aj.),
- případné vlivy střevní nebo předžaludkové mikroflóry, enterohepatického cyklu a činnosti slepého střeva na metabolismus.

1.3.2 Analytické stanovení reziduí: kvalitativní a kvantitativní složení reziduí (aktivní látka, metabolity) v různých požitelných živočišných produktech při metabolické rovnováze a za praktických podmínek užití doplňkové látky.

⁽¹⁾ Úř. věst. L 322, 23.11.1991, s. 1.

⁽²⁾ Zkoušky uvedené v bodech 1.3.1, 1.3.3 a 1.3.4 se provedou pomocí značených molekul nebo podle jiných vhodných metod; výběr použité metody je třeba vždy odůvodnit. Značení musí vyhovovat sledovanému účelu.

⁽³⁾ Je-li aktivní látkou produkt fermentace, musí být tyto zkoušky rozšířeny i na podobné látky odvozené z výrobního procesu.

1.3.3 Kinetická zkouška reziduí (po opakovaném podávání doplňkové látky za navržených podmínek používání): persistence aktivní látky a hlavních metabolitů v různých orgánech a tkáních po vysazení krmiva obsahujícího doplňkovou látku.

1.3.4 Zkouška biologické využitelnosti reziduí v požitelných živočišných produktech (viz bod 3.7).

1.3.5 Metody monitoringu: popis kvalitativních a kvantitativních analytických metod použitých pro zkoušky vyžadované v bodech 1.3.1. až 1.3.4. s uvedením údajů o procentických výsledcích, specifitě a limitech detekce. Metody stanovení reziduí musí být dostatečně citlivé, aby umožnily detekci reziduí i při toxikologicky zanedbatelných koncentracích.

2. Zkoušky vyloučených reziduí (je-li aktivní látka chemicky definovaná)

2.1 Druh a koncentrace reziduí odvozených od doplňkové látky (aktivní látka, metabolity) v exkrementech.

2.2 Persistence (poločas rozpadu) a kinetika vylučování těchto reziduí ve výkalech, hnoji a podestýlce.

2.3 Účinky na tvorbu methanu.

2.4 Odbourávání, persistence (poločas rozpadu) a kinetika vylučování do půdy (různé půdní typy).

2.5 Účinky na půdní faunu a mikrobiální procesy transformace (např. odbourávání rostlinných a živočišných reziduí).

2.6 Účinky na suchozemské rostliny (např. klíčivost semen, růst rostlin, příjem rostlinami). Tyto zkoušky musí být prováděny za kontrolovaných podmínek v terénu na různých druzích rostlin.

2.7 Rozpustnost a stabilita produktů pocházejících z doplňkové látky ve vodě (aktivní látka, metabolity).

2.8 Účinky na život ve vodě:

2.8.1 Účinky na rostliny (např. rodu *Chlorella*)

2.8.2 Toxicita u bezobratlých (např. *Daphnia magna*)

2.8.3 Toxicita u ryb (minimálně na dvou vybraných druzích, které žijí volně na území Společenství).

3. Zkoušky na laboratorních zvířatech

Tyto zkoušky musí být zaměřeny na aktivní látku a její hlavní metabolity nebo produkty, jestliže se tyto vyskytují v požitelném živočišném produktu a jsou biologicky využitelné. Jako laboratorní zvířata by pokud možno měla být vybírána ta, u nichž lze předpokládat, že stravení a metabolismus doplňkové látky bude obdobný jako u člověka nebo u cílového druhu zvířat.

Musí být proveden podrobný popis provedených pokusů zahrnující druh a linii použitých zvířat, velikost a počet pokusných a kontrolních skupin, použité dávkování, složení krmné dávky, výsledky analýz krmiva, podmínky chovu, přesnou délku trvání pokusů, data různých provedených vyšetření a mortalitu. Musí být vypracována podrobná zpráva o výsledcích všech makroskopických, patologických a histopatologických nálezů pozorovaných na pokusných zvířatech s udáním doby výskytu všech patologických lézí. Z provedených zkoušek musí být předloženy podrobně zpracované výsledky a statistické vyhodnocení.

3.1 Akutní toxicita (nevtahuje se na mikroorganismy)

3.1.1 Zkoušky akutní orální toxicity musí být provedeny na dvou druzích zvířat, z nichž jedním by měl být potkan. Maximální dávkování by nemělo překročit 2 000 mg na 1 kg živé hmotnosti. Podrobné záznamy o pozorovaných biologických účincích by měly být k dispozici za dobu minimálně dvou týdnů po aplikaci. Tyto zkoušky se nevtahují na enzymatické přípravky.

3.1.2 Zkoušky akutní inhalační toxicity, účinků na pokožku, popřípadě i na sliznici a alergenního potenciálu musí být provedeny prostřednictvím vhodných pokusů s ohledem na možná rizika při manipulaci s doplňkovou látkou.

3.2 Mutagenita

3.2.1 Je-li aktivní látka chemicky definovaná

Pro identifikaci mutagenních vlastností aktivních látek nebo jejich metabolitů či produktů musí být provedeny vybrané kombinační mutagenní testy, založené na různých konečných genetických ukazatelích. Testy musí být prováděny za přítomnosti a při absenci mikrosomálních savčích přípravků pro metabolickou aktivaci.

Doporučuje se provést následující soubor testů:

- a) test genových mutací v prokariotickém systému;
- b) test genových mutací v *in vitro* eukariotickém systému nebo test recesivního letálního a na pohlaví vázaného faktoru u octomilky *Drosophila melanogaster*;
- c) test chromozomálních aberací *in vitro* a *in vivo*.

Z takto navrženého souboru testů nevyplývá, že by jiné testy nebyly vyhovující nebo že jiné testy, zejména testy *in vivo*, nejsou přijatelné jako alternativa.

Ve všech případech musí být výběr testů zdůvodněn. Testy musí být prováděny podle zavedených validovaných postupů. V závislosti na získaných výsledcích, celkovém toxikologickém profilu látky a na jejím užití může vyvstat potřeba provedení dodatečných zkoušek.

3.2.2 U enzymatických přípravků odvozených z mikroorganismů se obvykle vyžadují následující testy:

- a) test genových mutací bakterií;
- b) test chromozomálních aberací (přednostně *in vitro*).

Toxikologické testy se musí pokud možno provádět s použitím šarže přečištěného finálního fermentačního produktu před přidáním nosičů, ředidel nebo jiných látek. Tyto testy musí být v zásadě prováděny v souladu s hlavními zásadami⁽¹⁾, které stanovily uznávané mezinárodní vědecké instituce. Vzhledem k účinkům látek bílkovinné povahy a/nebo enzymatických aktivit některých enzymatických přípravků, projevujícím se na buněčné úrovni, může vyvstat potřeba, zvláště u testů *in vitro*, pozměnit standardní protokol o testu. Tyto odchylky lze připustit, pokud jsou odůvodněny pádnými argumenty.

Systém testů je navržen tak, aby objasnil nespécifické toxické reakce a prokázal genotoxické účinky. Kombinované informace z obecných specifikací a ze souboru testů umožňují stanovit jak specifické dobře známé toxiny, tak i neznámé toxické sloučeniny v produktu.

Toxikologická zpráva musí obsahovat dostatečnou dokumentaci prokazující, že testy byly provedeny na materiálu, který tvoří základ obchodního produktu, jak byl popsán v technické dokumentaci.

3.3 Farmakokinetické aspekty

Je-li aktivní látka chemicky definovaná, musí být bilanční zkoušky a identifikace metabolitů provedeny pomocí molekul, které jsou vhodným způsobem značeny, nebo s pomocí jiných vhodných technik, po podání jedné a více dávek aktivní látky ve stanovených časových obdobích. Zkoušky metabolismu musí zahrnout také zkoušky o farmakokinetice aktivní látky a jejích hlavních metabolitů. U následujících toxikologických vyšetření je třeba při výběru nejvhodnějších druhů věnovat pozornost rozdílům v metabolismu aktivní látky u různých druhů zvířat.

3.4 Subchronická toxicita

Tyto zkoušky musí být zásadně prováděny na dvou druzích zvířat, z nichž jedním by měl být přednostně potkan. Druhým druhem může být v některých případech cílový druh zvířat. Zkoušená látka se podává orálně, přičemž je nutno vyhodnotit vztah dávka — účinek. U hlodavců musí pokus trvat minimálně 90 dní.

V určitých případech může být žádoucí provést zkoušky v délce od 6 měsíců do dvou let na jiných živočišných druzích, než jsou hlodavci, aby bylo možné určit citlivost různých druhů zvířat vůči testované látce.

Tyto zkoušky se nevztahují na mikroorganismy. U enzymatických přípravků získaných z mikroorganismů může postačovat provedení testu orální toxicity v délce devadesáti dnů na některém druhu hlodavců.

3.5 Chronická toxicita/karcinogenita

Zkoušky chronické toxicity musí být prováděny na jednom druhu hlodavců (přednostně potkanech); zkoušky karcinogenity na dvou druzích hlodavců. Zkoušená látka musí být podávána orálně v různých dávkách. Rovněž může být provedena kombinovaná zkouška chronické toxicity a karcinogenity *in utero*. Pokusy musí probíhat po dobu minimálně 24 měsíců u potkanů a 18 měsíců u myši. V případě překročení minimální stanovené délky trvání musí být pokus ukončen, jakmile počet zvířat, která přežila v každé skupině, s výjimkou té, již byla podávána nejvyšší dávka, klesne na 20 %.

⁽¹⁾ Jako například:

- předložení žádosti o posouzení přídatné látky do potravin před jejím povolením, 1989 (ISBN 92-826-0135-B),
- zpráva Vědeckého výboru pro potraviny o hlavních zásadách při posuzování bezpečnosti přídatných látek do potravin, 1980, 10. řada zpráv (EUR 6892).

V průběhu celého pokusu musí být prováděny ve vhodných časových intervalech komplexní klinicko-chemické a hematologické zkoušky a zkoušky moči. U všech uhynulých zvířat i u zvířat, která pokus přežila, musí být prováděny komplexní makroskopické a histologické zkoušky.

Tyto zkoušky se nevztahují na mikroorganismy a enzymatické přípravky.

3.6 Reprodukční toxicita (je-li aktivní látka chemicky definovaná)

Zkoušky účinku na reprodukci se musí provádět přednostně na potkanech. Musí trvat po dobu minimálně dvou filialních generací a mohou být spojeny s testy embryotoxicity a teratogenity. Povinně se zaznamenávají a vyhodnocují všechny parametry oplození, zabřeznutí, březosti a vrhu a prenatální a postnatální stav. Specifické testy teratogenity musí být provedeny minimálně na dvou vhodných druzích zvířat.

3.7 Toxikologie metabolitů (je-li aktivní látka chemicky definovaná)

Jako základ pro vyhodnocení rizik pro člověka musí být předloženy podklady pro výpočet koncentrace reziduí.

Musí být dány k dispozici podklady pro výpočet navržené ochranné lhůty. Zkoušky uvedené v bodě 1.3.4 musí být prováděny na laboratorních zvířatech.

3.8 Jiné vhodné zkoušky

Je možné předložit jakoukoli jinou speciální zkoušku, která poskytuje doplňující údaje užitečné pro vyhodnocení zkoušené látky (např. zkouška biologické využitelnosti, neurotoxicity nebo imunotoxicity).

KAPITOLA V VZOR MONOGRAFIE

1. Identita doplňkové látky

- 1.1 Navrhovaný(é) obchodní název (názy).
- 1.2 Typ doplňkové látky s ohledem na její hlavní funkce.
- 1.3 Kvalitativní a kvantitativní složení (aktivní látka, ostatní komponenty, nečistoty).
- 1.4 Fyzikální vlastnosti, velikost částic.
- 1.5 Případný specifický výrobní proces.

Pozn.: Je-li aktivní látka směsí aktivních složek, musí být každá chemicky definovatelná hlavní složka popsána zvlášť a musí být uvedeno její procentické složení ve směsi.

2. Specifikace aktivní látky

- 2.1 U chemicky definovaných látek: druhový název, chemické označení podle nomenklatury IUPAC, další mezinárodní druhové názvy a zkratky. Číslo CAS (Chemical Abstract Service Number).

U mikroorganismů: název a taxonomický popis podle mezinárodních nomenklaturních kódů. Mohou být použity i jiné mezinárodně uznávané klasifikace ⁽¹⁾.

U enzymatických přípravků: název v souladu s hlavní enzymatickou aktivitou podle IUB/IUPAC, EINECS a CAS.

- 2.2 Empirický a strukturální vzorec, molekulová hmotnost. Kvalitativní a kvantitativní složení hlavních komponentů, je-li aktivní látka produktem fermentace.

U mikroorganismů: název a místo sbírky kultur, kde je kmen uložen, pokud možno ze sbírky kultur Evropského společenství, depozitní číslo, pod kterým je kmen uložen, genetická modifikace a všechny vlastnosti důležité pro jeho identifikaci.

U enzymatických přípravků: biologický původ (v případě mikrobiologického původu: název a místo sbírky kultur, pokud možno sbírky kultur Evropského společenství, kde je kmen uložen, depozitní číslo, pod kterým je kmen uložen, genetická modifikace a všechny vlastnosti důležité pro jeho identifikaci, včetně genetických dat), aktivity týkající se chemicky čistých modelových substrátů a další fyzikální a chemické vlastnosti.

- 2.3 Stupeň čistoty

Kvalitativní a kvantitativní složení nečistot.

U mikroorganismů: genetická stabilita a čistota kultivovaných kmenů.

U enzymatických přípravků:

— čistota (úroveň mikrobiální kontaminace, množství těžkých kovů, nepřítomnost toxinů (např. mykotoxinů) pocházejících ze zdroje organismu, prokázána vhodnou metodou,

⁽¹⁾ Např. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Yeasts, a taxonomic study* od Loddera a Kregera van Rij, *Ainsworth and Bisby's Dictionary of Fungi* od Hawkswortha, Suttona a Ainswortha nebo *The Genus Aspergillus* od Rapera a Fennella.

- absence antimikrobiální aktivity při koncentracích obsažených v krmivu, prokázaná vhodnou metodou,
- složení neenzymatických komponentů (zejména veškerých organických složek — TOS).

2.4 Důležité vlastnosti

U chemicky definovaných látek: elektrostatické vlastnosti, bod tání, bod varu, teplota rozkladu, hustota, tlak par, rozpustnost ve vodě a v organických rozpouštědlech, hmotové a absorpční spektrum a jakékoli jiné důležité fyzikální vlastnosti.

U mikroorganismů: vlastnosti důležité pro identifikaci a navrhované použití (např. vegetativní nebo sporující formy, počet jednotek tvořících kolonie na gram).

U enzymatických přípravků: optimální hodnota(y) pH, optimální teplota(y) a další důležité vlastnosti.

3. Fyzikálně-chemické, technologické a biologické vlastnosti doplňkové látky

- 3.1 Stabilita (u mikroorganismů: ztráta biologické aktivity, např. životaschopnosti) při působení podmínek vnějšího prostředí jako je světlo, teplota, pH, vlhkost a kyslík. Doba skladování.
- 3.2 Stabilita (u mikroorganismů: ztráta biologické aktivity, např. životaschopnosti) při výrobě premixů a krmiv, zejména termostabilita, stabilita vůči tlaku a vlhkosti. Případné produkty rozkladu.
- 3.3 Stabilita (u mikroorganismů: ztráta biologické aktivity, např. životaschopnosti) během skladování premixů a krmiv za stanovených podmínek. Doba skladování.
- 3.4 Další důležité fyzikálně-chemické, technologické a biologické vlastnosti, zejména schopnost vytvářet homogenní směsi v premixech a krmivech, vlastnosti týkající se prašnosti a u mikroorganismů a/nebo enzymatických přípravků stanovení odolnosti vůči degradaci nebo ztrátě biologické aktivity v trávicí soustavě nebo při dímulovaných procesech in vitro.
- 3.5 Fyzikálně-chemické nebo biologické nesnášenlivosti nebo interakce (např. s krmivy, jinými povolenými doplňkovými látkami nebo léčebnými látkami).

4. Metody kontroly

- 4.1 Popis použitých metod pro určení kritérií uvedených v bodech 1.3, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3 a 3.4 této kapitoly.
- 4.2 Popis kvalitativních a kvantitativních analytických metod pro stanovení a měření reziduí doplňkových látek v živočišných produktech.
- 4.3 Pokud byly uvedené metody publikovány, stačí uvést odkazy na příslušnou literaturu a připojit příslušné zvláštní otisky.

5. Biologické vlastnosti doplňkové látky

- 5.1 Údaje o profylaktických účinných kokcidiostatik a jiných léčebných látek (např. nemocnost, počet oocyst a výskyt poškození).
- 5.2 U zootechnických doplňkových látek jiných, než jsou uvedeny v bodě 5.1, zahrnujících případně i mikroorganismy a/nebo enzymatické přípravky: údaje o vlivech na nutriční účinnost, růst zvířat, užitkovost a vlastnosti živočišných produktů, spokojenou existenci zvířat a další ukazatele, které příznivě ovlivňují živočišnou výrobu.
- 5.3 Jakékoli kontraindikace nebo varování, včetně biologických nesnášenlivostí, a jejich odůvodnění.

6. Podrobnosti o kvalitativním a kvantitativním vyhodnocení reziduí v živočišném produktu při předpokládaném užití doplňkové látky, pokud se v něm vyskytují.

7. Ostatní vlastnosti důležité pro identifikaci doplňkové látky.
