

II

(Actos cuya publicación no es una condición para su aplicabilidad)

CONSEJO

DIRECTIVA DEL CONSEJO

de 16 de febrero de 1987

por la que se fijan líneas directrices para la evaluación de los aditivos en la alimentación animal

(87/153/CEE)

EL CONSEJO DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea,

Vista la Directiva 70/524/CEE del Consejo, de 23 de noviembre de 1970, sobre los aditivos en la alimentación animal⁽¹⁾, cuya última modificación la constituye la Directiva 86/525/CEE de la Comisión⁽²⁾, y, en particular, su artículo 9,

Vista la propuesta de la Comisión,

Considerando que la Directiva 70/524/CEE prevé que el examen de los aditivos debe efectuarse basándose en un expediente transmitido oficialmente a los Estados miembros y a la Comisión;

Considerando que tales expedientes deben permitir comprobar que los aditivos responden, para el uso propuesto, a los principios generales impuestos por la Directiva para su inscripción, en sus Anexos;

Considerando que parece necesario prever que se redacten esos expedientes de acuerdo con líneas directrices comunes que definan los datos científicos que permitan identificar y caracterizar los productos de que se trate, así como los estudios necesarios para evaluar en particular su eficacia, así como su inocuidad para los seres humanos, los animales y el medio ambiente;

Considerando que las líneas directrices constituyen ante todo una guía general; que, en función de la naturaleza del aditivo o las condiciones de su empleo, la amplitud de los estudios necesarios para evaluar sus propiedades o sus efectos podrá variar;

Considerando que es necesario aplicar los principios de las buenas prácticas de laboratorio en la elaboración de los aditivos destinados a la alimentación animal, con el fin de

obtener resultados experimentales válidos; que, además, es conveniente reducir en la máxima medida posible los procedimientos que recurren a la utilización de animales de laboratorio con fines experimentales o con otros fines científicos;

Considerando que se han establecido las líneas directrices sobre la base de los conocimientos científicos y técnicos actuales y que podrán ser adaptadas, si hubiese lugar, a cualquier tipo de evolución en ese campo,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Artículo 1

Los Estados miembros prescribirán que los expedientes que deban acompañar a toda solicitud de inscripción de un aditivo o de un nuevo uso de un aditivo en los Anexos de la Directiva 70/524/CEE, se redacten según las líneas directrices que figuran en el Anexo de la presente Directiva.

Artículo 2

La presente Directiva se aplicará sin perjuicio de las disposiciones relativas a:

- a) las buenas prácticas de laboratorio referentes a la aceptación mutua de los datos para la evaluación de los productos químicos, y
- b) la protección de los animales utilizados con fines experimentales o con otros fines científicos.

Artículo 3

Los Estados miembros pondrán en vigor las disposiciones legales, reglamentarias o administrativas necesarias para dar cumplimiento a la presente Directiva el 31 de diciembre de 1987 a más tardar. Informarán de ello inmediatamente a la Comisión.

⁽¹⁾ DO nº L 270 de 14. 12. 1970, p. 1.

⁽²⁾ DO nº L 310 de 5. 11. 1986, p. 19.

Artículo 4

Los destinatarios de la presente Directiva son los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 16 de febrero de 1987.

Por el Consejo

El Presidente

L. TINDEMANS

ANEXO

LÍNEAS DIRECTRICES PARA LA EVALUACIÓN DE LOS ADITIVOS EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

CONSIDERACIONES GENERALES

Las presentes líneas directrices constituyen una guía para la confección de los expedientes de las sustancias y preparados susceptibles de ser admitidas como aditivos de los alimentos de los animales. Estos expedientes deben permitir la evaluación de los aditivos según el estado actual de los conocimientos, así como la comprobación de que responden a los principios fundamentales impuestos para su admisión, que son objeto de las disposiciones del apartado 2 del artículo 7 de la Directiva 70/524/CEE del Consejo, de 23 de noviembre de 1970, sobre los aditivos en la alimentación animal⁽¹⁾.

Podrán solicitarse todos los estudios indicados en estas líneas directrices y, si fuera necesario, se pedirá información complementaria. Como norma general, deberán presentarse los estudios tendentes a establecer la identidad, las condiciones de empleo, las propiedades físico-químicas, los métodos de control y la eficacia del aditivo, así como su metabolismo y sus efectos biológicos y toxicológicos en las especies a las que se destinen. Los estudios necesarios para la evaluación de los riesgos para la salud humana y para el medio ambiente dependerá esencialmente de la naturaleza del aditivo y de las circunstancias de su empleo. A este respecto, no prevalecerá ninguna norma estricta.

No siempre sería necesario someter los aditivos destinados únicamente a la alimentación de los animales de compañía a pruebas de toxicidad crónica y de mutagénesis y oncogénesis tan completas como las practicadas con los aditivos destinados a la alimentación de animales de renta cuyos productos son consumidos por el hombre. Para la determinación de la toxicidad crónica serán generalmente suficientes las pruebas realizadas durante un año, con dos de las especies a que se destina, o bien con una sola especie y con ratas. En general se puede prescindir de los estudios sobre los efectos mutágenos y oncogénicos, cuando ni la composición química, ni la experiencia adquirida en la utilización ni otros motivos, permiten detectar indicios de alteración. Igualmente se podrá prescindir del análisis de residuos en los animales de compañía.

El conocimiento del metabolismo del aditivo en los animales de abasto, de sus residuos y de su biodisponibilidad es fundamental. Dicho conocimiento debe permitir determinar en particular la amplitud de los estudios toxicológicos que deberán realizarse sobre animales de laboratorio con el fin de evaluar los riesgos eventuales para el consumidor. Dicha evaluación no podrá en ningún caso basarse en datos limitados a los efectos directos del aditivo en los animales de laboratorio. Estos datos no suministrarían informaciones específicas sobre los efectos reales de los residuos resultantes del metabolismo en las especies a las que se destina el aditivo.

Toda solicitud de admisión de un aditivo o de un nuevo uso de un aditivo se documentará con un expediente contenido por informes detallados, presentados ordenadamente y según la numeración propuesta en las líneas directrices. La ausencia en el expediente de cualquier dato previsto deberá justificarse. Se adjuntarán las publicaciones citadas en la referencia. Los informes de experimentos incluirán el plan y el número de referencia del experimento, la descripción detallada de los ensayos, los resultados y su análisis, así como el nombre, la dirección y la firma de la persona responsable del estudio. Los informes deberán ir acompañados de una declaración de la persona encargada de velar por las buenas prácticas de laboratorio relativas al cumplimiento de las mismas.

La determinación de las propiedades físico-químicas, toxicológicas y excotoxicológicas se efectuará por medio de métodos fijados por la Directiva 84/449/CEE de la Comisión, de 25 de abril de 1984, referente a la sexta adaptación de la Directiva 67/548/CEE del Consejo, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas sobre la clasificación, embalaje y etiquetado de las sustancias peligrosas⁽²⁾ o con ayuda de métodos internacionalmente reconocidos en los medios científicos. La utilización de otros métodos deberá justificarse.

Cada expediente comprenderá un resumen adecuado. Los expedientes de antibióticos, de coccidiostáticos y demás sustancias medicamentosas, y de factores de crecimiento deberán ir, además, acompañados necesariamente de una monografía conforme al modelo que figura en capítulo V y que permita identificar y caracterizar el aditivo de que se trate con arreglo a las disposiciones del apartado 1 del artículo 8 de la Directiva 70/524/CEE.

En estas líneas directrices, el término « aditivo » se refiere a las sustancias activas o a las preparaciones que contengan sustancias activas, en la forma en que esas sustancias son incorporadas en las premezclas y a los piensos.

Cualquier modificación que se produzca en el proceso de fabricación o en la composición de un aditivo, en su campo de aplicación o sus condiciones de empleo, deberá notificarse a la Comisión en un período de tiempo razonable, por parte del Estado miembro que presentó el expediente, y podrá requerir la aportación de una documentación adecuada a la nueva evaluación. Estas exigencias se impondrán especialmente en caso de productos obtenidos a partir de microorganismos cuya dotación genética se haya modificado o que constituyan mutantes naturales.

(1) DO nº L 270 de 14. 12. 1970, p. 1.

DO nº L 319 de 8. 12. 1984, p. 13.

(2) DO nº L 251 de 19. 9. 1984, p. 1.

SUMARIO

- CAPÍTULO I: Resumen de los datos del expediente
- CAPÍTULO II: Identidad, características y condiciones de empleo del aditivo
Métodos de control
- CAPÍTULO III: Estudios sobre la eficacia del aditivo
1. Estudios sobre mejora de la calidad de los piensos
 2. Estudios de la influencia sobre la producción animal
 3. Estudio de la calidad de los productos animales
- CAPÍTULO IV: Estudios sobre la seguridad de empleo del aditivo
1. Estudios sobre las especies a las que se destina
 - 1.1. Estudios toxicológicos del aditivo
 - 1.2. Estudios microbiológicos del aditivo
 - 1.3. Estudio del metabolismo y de los residuos de la sustancia activa
 2. Estudios de los residuos excretados
 3. Estudios con animales de laboratorio
- CAPÍTULO V: Modelo de monografía

CAPÍTULO I

RESUMEN DE LOS DATOS DEL EXPEDIENTE

CAPÍTULO II

IDENTIDAD, CARACTERÍSTICAS Y CONDICIONES DE EMPLEO DEL ADITIVO
MÉTODOS DE CONTROL**1. Identidad del aditivo**

- 1.1. Denominaciones previstas para su comercialización.
- 1.2. Tipo de aditivo en función del efecto principal (ej.: antibiótico, coccidiostático, histomonostático, agente conservante, etc.).
- 1.3. Estado físico, dimensiones de las partículas.
- 1.4. Composición cualitativa y cuantitativa (sustancia activa, otros componentes, impurezas).
- 1.5. Procedimiento de fabricación. Eventuales tratamientos específicos.

2. Especificaciones concernientes a la sustancia activa

- 2.1. Denominación genérica, denominación química según la nomenclatura UIQPA, otras denominaciones genéricas y abreviaturas. Número CAS (Chemical Abstracts Service Number).
- 2.2. Fórmula empírica y estructural, peso molecular. Si se trata de productos de fermentación, composición cualitativa y cuantitativa de los principales elementos.
- 2.3. Grado de pureza. Composición cualitativa y cuantitativa de las impurezas.
- 2.4. Propiedades electrostáticas, punto de fusión, punto de ebullición, temperatura de descomposición, densidad, tensión de vapor, solubilidad en el agua y en los disolventes orgánicos, espectro de masa y de absorción y cualquier otra propiedad física pertinente.
- 2.5. Procedimiento de fabricación y de purificación. Variaciones en la composición de los lotes en el proceso de fabricación.

NB: Cuando se trate de un aditivo formado por una mezcla de componentes activos, deberá describirse por separado cada uno de los principales componentes químicos susceptibles de identificación, así como su proporción en la mezcla.

3. Propiedades físico-químicas y tecnológicas del aditivo

- 3.1. Estabilidad respecto a los agentes atmosféricos (luz, temperatura, humedad, oxígeno, etc.).
- 3.2. Estabilidad en el momento de la preparación de las premezclas y de los piensos, en particular, estabilidad al calor, la presión y la humedad. Eventuales productos de descomposición.
- 3.3. Estabilidad durante la conservación de las premezclas y de los piensos (período de conservación).
- 3.4. Otras propiedades físico-químicas y tecnológicas adecuadas, en particular, aptitud para la homogeneización en las premezclas y los piensos, propiedades en materia de formación de polvo.
- 3.5. Interacciones físico-químicas (incompatibilidad con los piensos, otros aditivos o medicamentos, etc.).

4. Condiciones de empleo del aditivo

- 4.1. Empleos previstos en la alimentación animal (especies o categorías de animales, tipos de piensos, períodos de utilización, tiempo de retirada, etc.).
- 4.2. Contraindicaciones.
- 4.3. Concentraciones previstas en las mezclas previas y los piensos (contenidos de sustancia activa, en porcentaje de peso para las premezclas; en mg/kg para los piensos).
- 4.4. Otras aplicaciones conocidas del producto activo o del preparado (en productos de consumo humano, en medicina humana o veterinaria, en la agricultura, etc.). Para cada uso del producto deberá hacerse constar la denominación comercial, así como las indicaciones y contraindicaciones.
- 4.5. En caso necesario, medidas preventivas y medios de protección en la fabricación y manipulación.

5. Métodos de control

- 5.1. Descripción de los métodos aplicados para establecer los criterios enunciados en los puntos 1.4, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 y 4.3.
- 5.2. Descripción de los métodos de análisis cualitativo y cuantitativo destinados al control de rutina del aditivo en las premezclas y los piensos.

- 5.3. Descripción de los métodos de análisis cualitativo y cuantitativo empleados para la determinación de los residuos de aditivos en los productos animales.

NB: La descripción de los métodos citados deberá comprender indicaciones relativas a la tasa de recuperación, la especificidad, la sensibilidad, las eventuales interferencias, límites de detección y capacidad de repetición, así como sobre el método de muestreo utilizado. Igualmente deberá proporcionarse una muestra o modelo del preparado y de la sustancia activa.

CAPÍTULO III

ESTUDIOS SOBRE LA EFICACIA DEL ADITIVO

1. Estudios sobre mejora de la calidad de los piensos

Estos estudios se refieren esencialmente a los aditivos tecnológicos tales como los agentes antioxidantes, los agentes conservadores, agentes emulsionantes, gelificantes, etc., que se destinan a mejorar la calidad de las premezclas y de los piensos o a prolongar su período de conservación.

Habrà que poner en evidencia los efectos del aditivo que se pretenden, mediante criterios adecuados, comparando los piensos que lleven el aditivo en las condiciones de empleo previstas con piensos testigo y, eventualmente, con piensos que contengan aditivos tecnológicos cuya eficacia se conozca.

Para cada estudio será necesario precisar la naturaleza exacta de las sustancias activas, de las preparaciones, de las premezclas y de los piensos examinados, el número de referencia de los lotes, la concentración de sustancia activa en las premezclas y en los piensos, las condiciones de los ensayos (temperatura, humedad, etc.), las fechas y la duración de los ensayos, así como los efectos desfavorables y otras incidencias acaecidas en el transcurso de los ensayos.

2. Estudios de la influencia sobre la producción animal

Estos estudios se refieren esencialmente a los aditivos zootécnicos, tales como los antibióticos, los factores de crecimiento, los coccidiostáticos y otras sustancias medicamentosas, etc., que provocan efectos en las producciones animales. Los estudios indicados a continuación se realizarán sobre cada especie a la que se destine el aditivo en comparación con grupos de animales testigos y, eventualmente, con grupos de animales que reciban alimentos que contengan aditivos cuya eficacia se conozca.

- 2.1. Para los antibióticos y los factores de crecimiento, se hará un estudio de los efectos sobre la eficacia nutritiva, sobre el crecimiento del animal, así como sobre el rendimiento de las producciones animales. Determinar la relación dosis/efecto.

- 2.2. Para los coccidiostáticos y otras sustancias medicamentosas deberá atenderse, en primer lugar, a la comprobación de los efectos específicos, especialmente el poder profiláctico (por ejemplo, morbilidad, número de oocistos, valoración de las lesiones, etc.). Asimismo deberán adjuntarse datos sobre la eficacia nutritiva y sobre el crecimiento de los animales, así como sobre la cantidad y la calidad comercial de los productos de ellos derivados.

2.3. Condiciones experimentales.

Las pruebas que se realicen deberán describirse por separado y detalladamente. Los expedientes de cada ensayo permitirán la valoración estadística de los resultados. Se precisarán los datos siguientes:

- 2.3.1. Especie, raza, edad y sexo de los animales y su modo de identificación.
- 2.3.2. Número de los grupos de experimentación y de control; número de animales en cada grupo. A efectos estadísticos, deberá seleccionarse un número suficiente de animales de ambos sexos.
- 2.3.3. Concentración de la sustancia activa en el pienso verificado mediante un análisis de control. Número de referencia del lote utilizado. Composición cualitativa y cuantitativa de la ración diaria.
- 2.3.4. Lugar de las pruebas; estado fisiológico y sanitario de los animales, así como diferentes condiciones de alimentación y de crianza con arreglo a las prácticas en uso en la Comunidad.
- 2.3.5. Fecha y duración exacta de las pruebas; fecha de las comprobaciones realizadas.
- 2.3.6. Efectos desfavorables y otras incidencias observadas en el transcurso de las pruebas; tiempo de aparición de los mismos.

3. Estudio de la calidad de los productos animales

Estudio de las características organolépticas, nutricionales, higiénicas y tecnológicas de los productos comestibles de animales que hayan recibido una alimentación que contenga el aditivo.

CAPÍTULO IV

ESTUDIOS SOBRE LA SEGURIDAD DE EMPLEO DEL ADITIVO

Los estudios indicados en este capítulo se destinan a evaluar :

- la seguridad de empleo del aditivo para las especies a las que se destine,
- los riesgos, para el consumidor, que puedan resultar del consumo de los productos alimenticios que contengan residuos del aditivo,
- los riesgos por inhalación y contacto cutáneo para las personas que deban manipular el aditivo puro o incorporado a las premezclas o a los alimentos,
- los riesgos de contaminación del medio ambiente por los productos, procedentes del aditivo, excretados por los animales.

Estos estudios se requerirán en su totalidad o en parte según la naturaleza del aditivo y de las condiciones de empleo impuestas. El conocimiento del metabolismo de la sustancia activa en las diferentes especies a las que se destina el aditivo, así como de la composición y de la biodisponibilidad de sus residuos tisulares será determinante para definir la amplitud de los estudios que hayan de iniciarse sobre animales de laboratorio a fin de evaluar los riesgos para el consumidor. Por otra parte, el conocimiento de la composición y de las propiedades físico-químicas y biológicas de los productos excretados procedentes del aditivo será indispensable para definir los límites de los estudios destinados a evaluar los riesgos de contaminación del medio ambiente.

1. Estudios sobre las especies a las que se destina el aditivo

1.1. Estudios toxicológicos del aditivo

Ensayos de tolerancia. Estudio de los efectos biológicos, toxicológicos, macroscópicos e histológicos. Determinación del coeficiente de seguridad (margen entre la dosis máxima propuesta y la dosis que provoca efectos desfavorables). Si se comprueba que la dosis que produce efectos desfavorables excede ampliamente de la dosis máxima de empleo propuesta, el valor de dicho coeficiente podrá ser mínimo o aproximativo.

1.2. Estudios microbiológicos del aditivo

1.2.1. Estudio del espectro de acción microbiológico del aditivo mediante la determinación de la concentración mínima de inhibición en bacterias patógenas y no patógenas gram-positivas y gram-negativas.

1.2.2. Estudio de la resistencia cruzada frente a antibióticos terapéuticos mediante la determinación de la concentración mínima de inhibición en mutantes producidos *in vitro*, cuya resistencia cromosómica contra el aditivo sea conocida.

1.2.3. Estudios destinados a determinar si el aditivo puede seleccionar factores de resistencia. Estos estudios deberán realizarse en condiciones de campo con las especies animales a las que vaya destinado principalmente el aditivo. A continuación se investigará si los factores R que eventualmente se hayan descubierto son portadores de una resistencia múltiple y son transmisibles.

1.2.4. Estudios destinados a determinar el efecto del aditivo sobre la flora intestinal normal, la colonización del tubo digestivo y la excreción de microorganismos patógenos.

1.2.5. Estudios de campo destinados a determinar el porcentaje de bacterias que presentan resistencia al aditivo. Dichos estudios se realizarán a grandes intervalos de tiempo antes y durante la utilización del aditivo (estudio de seguimiento).

1.3. Estudios del metabolismo y de los residuos de la sustancia activa⁽¹⁾ ⁽²⁾

1.3.1. Estudio del balance metabólico : índice de excreción urinaria, fecal y, eventualmente, respiratoria de la sustancia activa ; cantidad residual en el organismo.

1.3.2. Estudio del metabolismo : absorción, distribución, biotransformación, eliminación. Eventualmente, datos relativos a la excreción biliar, a la existencia de un ciclo enterohepático, a la influencia de la cecotrofia.

1.3.3. Estudio analítico de los residuos : composición cualitativa y cuantitativa de los residuos (sustancia activa, metabolitos) en los diferentes órganos y tejidos del animal, así como en los productos comestibles procedentes del mismo, tras el equilibrio metabólico y en las condiciones prácticas de empleo del aditivo.

⁽¹⁾ Los estudios indicados en los puntos 1.3.1, 1.3.2, 1.3.4 y 1.3.5 se realizarán, preferentemente, mediante moléculas marcadas. El marcado deberá adecuarse al objetivo que se persiga.

⁽²⁾ Cuando se trate de productos de fermentación, esos estudios deberían extenderse a las sustancias relacionadas con la sustancia activa, resultantes del procedimiento de producción.

- 1.3.4. Estudio farmacocinético de los residuos (tras la ingestión reiterada del aditivo según el empleo propuesto): persistencia de la sustancia activa y de los principales metabolitos en los diferentes órganos y tejidos después de retirar el alimento que contenga el aditivo.
- 1.3.5. Estudio de la biodisponibilidad de los residuos tisulares y de los residuos presentes en las producciones de las especies animales a las que se destine el aditivo (véase punto 3.8).
- 1.3.6. Métodos de control: descripción de los métodos de determinación cualitativa y cuantitativa utilizados en los estudios requeridos en los puntos 1.3.1a 1.3.5 con indicación de los índices de recuperación, de la especificidad y de los límites de detección. Los métodos de análisis de los residuos deberán ser suficientemente sensibles para permitir detectar los residuos hasta niveles toxicológicamente despreciables.

2. Estudios de los residuos excretados

- 2.1. Naturaleza y concentración de los residuos procedentes del aditivo (sustancia activa, metabolitos) en los excrementos.
- 2.2. Persistencia (duración de la vida media) y cinética de eliminación de estos residuos en los purines, estiércoles y camas.
- 2.3. Efectos sobre la producción de metano.
- 2.4. Degradación, persistencia (duración de la vida media) y cinética de eliminación en los suelos (diversos tipos de suelos).
- 2.5. Efectos sobre la fauna del suelo y sobre los procesos microbianos de transformación (descomposición de los residuos vegetales y animales, transformaciones del nitrógeno, etc.).
- 2.6. Efectos sobre los vegetales terrestres (germinación de las semillas, crecimiento de las plantas, absorción a través de las plantas, etc.). Estos estudios se efectuarán a cubierto y en condiciones de campo con diferentes especies vegetales.
- 2.7. Solubilidad y estabilidad en el agua de los productos derivados del aditivo (sustancia activa, metabolitos).
- 2.8. Efectos sobre la vida acuática:
 - 2.8.1. Efectos sobre la flora (por ej. *Chlorella*)
 - 2.8.2. Toxicidad sobre invertebrados (por ej. *Daphnia magna*)
 - 2.8.3. Toxicidad sobre peces (por lo menos dos especies, elegidas entre las especies salvajes que vivan en el territorio de la Comunidad).

3. Estudios con animales de laboratorio

Estos estudios se referirán a la sustancia activa y a sus principales metabolitos si estos últimos están presentes en los productos animales comestibles y biodisponibles. En la medida de lo posible, se elegirán animales de laboratorio que puedan metabolizar el aditivo de forma similar a la del hombre.

Se facilitará una descripción completa de los ensayos efectuados precisando la especie y la estirpe de los animales utilizados, la magnitud y el número de grupos de ensayos y de grupos testigos, las dosis administradas, la composición de la dieta y los resultados de los análisis de los piensos, las condiciones de cría, la duración exacta de los ensayos, las fechas de los diferentes exámenes efectuados y la mortalidad exacta. Los fenómenos patológicos macroscópicos e histopatológicos observados en los animales de ensayo, con indicación del momento de la aparición de todas las lesiones patológicas, serán objeto de informes exhaustivos. Los resultados y su evaluación estadística deberán presentarse detalladamente.

3.1. Toxicidad aguda

- 3.1.1. Se efectuarán estudios de toxicidad aguda por vía oral con dos especies animales, una de las cuales será, preferentemente, la rata. La dosis máxima no debería sobrepasar 2 000 mg/kg de peso corporal. Se facilitarán observaciones detalladas sobre los efectos biológicos observados durante un período de dos semanas como mínimo después de la ingestión.
- 3.1.2. Se efectuarán estudios de toxicidad aguda por inhalación, del efecto irritante sobre la piel y, si fuese necesario, sobre las mucosas, así como de su potencial alérgico mediante ensayos adecuados para la evaluación de los posibles riesgos asociados a la manipulación del aditivo.

3.2. Mutagénesis

Con objeto de identificar las sustancias activas o sus metabolitos que posean propiedades mutagénicas, se efectuará una combinación selectiva de ensayos de mutagénesis basados en diferentes mecanismos genéticos. Estos ensayos deberán practicarse para la activación metabólica en presencia y en ausencia de un preparado de microsomas de mamíferos.

Se recomienda el conjunto de los ensayos indicados a continuación :

- a) un ensayo de mutaciones de genes en sistema procariótico ;
- b) un ensayo de mutaciones de genes en sistema eucariótico *in vitro* o ensayo letal recesivo asociado al sexo con *Drosophila melanogaster* ;
- c) un ensayo de lesiones cromosómicas *in vitro* e *in vivo*.

Sin embargo, la combinación propuesta no significa que haya que limitarse a estos ensayos o que otros ensayos, especialmente *in vivo*, no serían aceptables como alternativas.

En todos los casos, habrá que justificar las razones de la elección. Los ensayos deberán realizarse de conformidad con los procedimientos establecidos y validados. Según los resultados obtenidos y teniendo en cuenta el perfil toxicológico general de la sustancia, así como el uso al que se destina, podrá indicarse la conveniencia de efectuar exámenes complementarios.

3.3. Aspectos metabólicos y farmacocinéticos

Deberán efectuarse estudios del balance, así como la identificación de metabolitos, mediante moléculas marcadas de forma adecuada y tras la administración de dosis únicas y múltiples de la sustancia activa durante un período de tiempo conveniente. Los estudios del metabolismo deberán comprender los de la farmacocinética de la sustancia activa y de los principales metabolitos. Se tendrán en cuenta las variaciones del metabolismo de la sustancia activa entre las diferentes especies animales a fin de elegir la especie más útil para las investigaciones toxicológicas posteriores.

3.4. Toxicidad subcrónica

En general, estos estudios deberán efectuarse con dos especies animales, una de las cuales será, preferentemente, la rata. La segunda especie podrá ser, en ciertos casos, una especie a la que se destine el aditivo. La sustancia deberá administrarse por vía oral y deberá establecerse una relación entre dosis y efecto. La duración del ensayo en los roedores será de 90 días como mínimo.

En algunos casos, serán deseables estudios de una duración de seis meses a dos años con el perro u otros animales no roedores, a fin de establecer la variación de sensibilidad de diferentes especies animales a la sustancia de que se trate.

3.5. Toxicidad crónica/oncogénesis

Los estudios de toxicidad crónica deberán efectuarse con una especie de roedores (preferentemente la rata) ; los estudios de oncogénesis, preferentemente, con dos especies de roedores. La sustancia se administrará por vía oral en diferentes dosis. Se podrá asimismo efectuar un estudio combinado de toxicidad crónica/oncogénesis con exposición *in utero*. Los ensayos deberán continuarse durante dos años como mínimo en la rata y 80 semanas en el ratón. Si el experimento se amplía más allá del período mínimo previsto, finalizará cuando el número de animales supervivientes de cada grupo, con excepción del que haya recibido la dosis más alta, quede reducido al 20 %. Se efectuarán exámenes de química clínica, hematológicos y urinarios completos a intervalos adecuados durante todo el período de experimentación. Deberán efectuarse exámenes macroscópicos e histológicos completos en todos los animales muertos durante el ensayo y en los animales que sobrevivan al ensayo.

3.6. Efectos sobre la reproducción

Los estudios sobre la reproducción deberán efectuarse preferentemente con ratas. Se extenderán a dos generaciones, como mínimo, en línea directa y podrán combinarse con estudios de embriotoxicidad, que incluyan las teratogénesis. Todos los parámetros referentes a la fertilidad, la gestación, el parto y la situación peri y post-natal deberán estudiarse y anotarse cuidadosamente. Los estudios específicos de teratogénesis deberán efectuarse al menos con dos especies animales apropiadas.

3.7. Biodisponibilidad

El conocimiento de la evolución de los residuos de la sustancia activa marcada, presentes en los tejidos y en los productos de las especies a las que se destina, requerirá un estudio de biodisponibilidad que incluya al menos un estudio del balance de los residuos tras la ingestión por los animales de laboratorio.

3.8. Toxicología de los metabolitos

Los documentos relativos al cálculo de la concentración de los residuos deberán presentarse para la evaluación de los riesgos para los seres humanos.

Deberán presentarse las bases para el cálculo de los tiempos de espera propuestos.

3.9. Otros estudios apropiados

Podrá presentarse cualquier otro estudio susceptible de aportar complementos de información útiles a la evaluación de la sustancia de que se trate, por ejemplo estudios sobre la toxicidad de relevo.

CAPÍTULO V

MODELO DE MONOGRAFÍA

1. **Identidad del aditivo**
 - 1.1. Tipo de aditivo en función del efecto principal (antibiótico, coccidiostático, histomonostático, factor de crecimiento, etc.).
 - 1.2. Estado físico, dimensiones de las partículas.
 - 1.3. Composición cualitativa y cuantitativa (sustancia activa, otros componentes, impurezas).
 - 1.4. Tratamientos específicos eventuales.
 2. **Especificaciones concernientes a la sustancia activa**
 - 2.1. Denominación genérica, denominación química según la nomenclatura UIQPA, otras denominaciones genéricas y abreviaturas. Número CAS (Chemical Abstract Service Number).
 - 2.2. Fórmula empírica y estructural, peso molecular. Si se trata de productos de fermentación, composición cualitativa y cuantitativa de los principales elementos.
 - 2.3. Grado de pureza. Composición cualitativa y cuantitativa de las impurezas.
 - 2.4. Propiedades físicas apropiadas, en particular, propiedades electrostáticas, punto de fusión, punto de ebullición, temperatura de descomposición, densidad, tensión de vapor, solubilidad en el agua y en los disolventes orgánicos, espectro de absorción, etc.

NB: Cuando se trate de un aditivo formado por una mezcla de componentes activos, deberá describirse por separado cada uno de los principales componentes químicos susceptibles de identificación, así como su proporción en la mezcla.
 3. **Propiedades físico-químicas y tecnológicas del aditivo**
 - 3.1. Estabilidad respecto a los agentes atmosféricos (luz, temperatura, humedad, oxígeno, etc.).
 - 3.2. Estabilidad en el momento de la preparación de las premezclas y de los piensos, en particular, estabilidad al calor, la presión y la humedad. Eventuales productos de descomposición.
 - 3.3. Estabilidad durante la conservación de las premezclas y de los piensos (período de conservación).
 - 3.4. Otras propiedades físico-químicas y tecnológicas adecuadas, en particular, aptitud para la homogeneización en las premezclas y los piensos, propiedades en materia de formación de polvo.
 - 3.5. Interacciones físico-químicas (incompatibilidad con piensos, otros aditivos o medicamentos, etc.).
 4. **Métodos de control**
 - 4.1. Descripción de los métodos aplicados para establecer los criterios enunciados en los puntos 1.3, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3 y 3.4 del presente capítulo.
 - 4.2. Descripción de los métodos de análisis cualitativo y cuantitativo empleados para la determinación de los residuos de aditivos en los productos animales.
 - 4.3. Si dichos métodos han sido publicados, bastará indicar las referencias bibliográficas.
 5. **Propiedades biológicas del aditivo**
 - 5.1. Para los coccidiostáticos y otros medicamentos, indicar los efectos profilácticos (morbidez, número de oocistos, etc.).
 - 5.2. Para los antibióticos y los factores de crecimiento, indicar los efectos sobre el rendimiento de los alimentos, el crecimiento de los animales y la calidad de los productos animales.
 - 5.3. Eventuales contraindicaciones o advertencias, incluyendo las incompatibilidades biológicas haciendo referencia a su justificación.
 6. **Indicación cualitativa y cuantitativa de eventuales residuos en los productos de origen animal según las condiciones de utilización previstas**
 7. **Otras características relevantes para la identificación del aditivo**
-