

387L0153

7.3.87

EUROOPAN YHTEISÖJEN VIRALLINEN LEHTI

N:o L 64/19

**NEUVOSTON DIREKTIIVI,**  
**annettu 16 päivänä helmikuuta 1987,**  
**eläinten rehuissa käytettävien lisäaineiden arvioinnin suuntaviivoista**  
(87/153/ETY)

EUROOPAN YHTEISÖJEN NEUVOSTO, joka

ottaa huomioon Euroopan talousyhteisön perustamissopimuksen,

ottaa huomioon rehujen lisäaineista 23 päivänä marraskuuta 1970<sup>(1)</sup> annetun neuvoston direktiivin 70/524/ETY, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna komission direktiivillä 86/525/ETY<sup>(2)</sup>, ja erityisesti sen 9 artiklan,

ottaa huomioon komission ehdotuksen,

sekä katsoo, että

direktiivissä 70/524/ETY säädetään, että lisäaineet on tutkittava jäsenvaltioille ja komissiolle virallisesti toimitettujen asiakirjojen perusteella,

näiden asiakirjojen perusteella on voitava tarkastaa, ovatko lisäaineet aiottuun käyttötarkoitukseensa direktiivissä säädettyjen yleisten periaatteiden mukaisia, jotta ne voidaan sisällyttää liitteisiin,

on todettu välttämättömäksi säätää, että asiakirjat on laadittava sellaisten yleisten suuntaviivojen mukaisesti, joissa määritellään kyseisten tuotteiden tunnistamisen ja määrittämisen mahdollistavat tieteelliset tiedot sekä ne tutkimukset, jotka ovat tarpeen arvioitaessa erityisesti lisäaineen tehoa ja turvallisuutta ihmisille, eläimille ja ympäristölle,

suuntaviivat on tarkoitettu ensisijaisesti yleiseksi ohjeeksi; lisäaineen laadun tai käyttöolosuhteiden mukaan lisäaineen ominaisuuksien ja vaikutusten selvittämiseksi vaadittavien tutkimusten laajuus voi vaihdella,

rehujen lisäaineita kehitettäessä on välttämätöntä soveltaa hyvän laboratoriokäytännön periaatteita sen varmistamiseksi, että laboratoriokokeiden tuloksia ei kyseenalaisteta; menettelyt,

joissa koe-eläimiä käytetään kokeellisiin tai muihin tieteellisiin tarkoituksiin on rajoitettava mahdollisimman vähiin, ja

suuntaviivat on laadittu nykyisen tieteellisen ja teknisen tiedon perusteella ja ne voidaan tarvittaessa mukauttaa tämän alan kehitykseen,

ON ANTANUT TÄMÄN DIREKTIIVIN:

*1 artikla*

Jäsenvaltioiden on säädettävä, että asiakirjat, jotka on liitettävä pyyntöön uuden lisäaineen tai lisäaineen uuden käytettävän sisällyttämiseksi direktiivin 70/524/ETY liitteisiin, on laadittava tämän direktiivin liitteessä vahvistettujen suuntaviivojen mukaisesti.

*2 artikla*

Tätä direktiiviä sovelletaan rajoittamatta määräyksiä, jotka koskevat:

- a) kemiallisten tuotteiden arviointia varten tarvittavien tietojen vastavuoroiseen hyväksymiseen liittyvää hyvää laboratoriokäytäntöä; ja
- b) kokeellisessa tai muussa tieteellisessä toiminnassa käytettävien eläinten suojelua.

*3 artikla*

Jäsenvaltioiden on saatettava tämän direktiivin noudattamisen edellyttämät lait, asetukset ja hallinnolliset määräykset voimaan viimeistään 31 päivänä joulukuuta 1987. Niiden on ilmoitettava tästä komissiolle viipymättä.

<sup>(1)</sup> EYVL N:o L 270, 14.12.1970, s. 1

<sup>(2)</sup> EYVL N:o L 310, 5.11.1986, s. 19

*4 artikla*

Tämä direktiivi on osoitettu kaikille jäsenvaltioille.

Tehty Brysselissä 16 päivänä helmikuuta 1987.

*Neuvoston puolesta*

*Puheenjohtaja*

L. TINDEMANS

---

## LIITE

## SUUNTAVIIVAT REHUKEN LISÄAINEIDEN ARVIOIMISEKSI

## YLEISIÄ NÄKÖKOHTIA

Nämä suuntaviivat on tarkoitettu ohjeeksi niiden asiakirjojen laatimisessa, joilla haetaan aineen tai valmisteen hyväksymistä rehujen lisäaineeksi. Näiden asiakirjojen perusteella on oltava mahdollista suorittaa on sen hetkiseen tietoon perustuva lisäaineiden arviointi ja niiden avulla on voitava varmistaa, että lisäaineet ovat rehujen lisäaineista 23 päivänä marraskuuta 1970 annetun neuvoston direktiivin 70/524/ETY 7 artiklan 2 kohdassa hyväksymiselle säädettyjen peruseriaatteiden mukaisia<sup>(1)</sup>.

Kaikkia näissä suuntaviivoissa tarkoitettuja tutkimuksia voidaan vaatia ja tarvittaessa voidaan pyytää täydentämään pyydettyjä tietoja. Yleisenä sääntönä voidaan pitää, että on suoritettava tutkimukset lisäaineen tunnistamisesta, käyttöolosuhteista ja fysikaalis-kemiallisista ominaisuuksista, lisäaineen määrittämismenetelmistä ja tehokkuudesta, lisäaineen käyttäytymisestä aineenvaihdunnassa sekä biologisista ja toksikologisista vaikutuksista kohdelajeihin. Ihmisen terveydelle ja ympäristölle aiheutuvia haittoja selvittävien tutkimusten tarpeellisuus riippuu olennaisesti lisäaineesta ja sen käyttöolosuhteista. Tältä osin ei voida soveltaa tiukkoja sääntöjä.

Yksinomaan lemmikkieläinten ruokintaan tarkoitettujen lisäaineiden osalta ei aina ole tarpeen suorittaa niin perusteellisia tutkimuksia kroonisen toksisuuden, mutageenisuuden ja karsinogeenisuuden testaamiseksi, kuin mitä vaaditaan niiltä lisäaineilta, joita käytetään ihmisravinnoksi kasvatettavien kotieläinten ruokinnassa. Kroonisen toksisuuden määrittämiseksi riittää yleensä vuoden mittainen koe kahdella kohdelajilla tai yhdellä kohdelajilla ja rotalla. Mutageenisuus- ja karsinogeenisuustutkimuksia ei tarvitse suorittaa, jos aineen kemiallinen koostumus, käytännön kokemukset tai muut näkökohdat osoittavat, että muutokset ovat epätodennäköisiä. Lemmikkieläimistä ei tarvitse analysoida lisäainejäämiä.

Ihmisravinnoksi tuotettavan karjan osalta on lisäaineen käyttäytymisestä aineenvaihdunnassa, jäämistä ja niiden bio-kertyvyydestä oltava riittävästi tietoa. Tiedon perusteella on erityisesti voitava päättää koe-eläimillä suoritettavien toksikologisten tutkimusten laajuus lisäaineesta kuluttajille mahdollisesti aiheutuvien vaarojen arvioimiseksi. Tämä arviointi ei voi perustua yksinomaan tutkimuksissa koe-eläimillä havaittuihin suoriin vaikutuksiin. Näistä ei ole mahdollista saada tarkkaa tietoa jäämien todellisista vaikutuksista niiden lajien aineenvaihdunnassa, joille lisäaine on tarkoitettu.

Kaikkiin hakemuksiin lisäaineen tai hyväksytyin lisäaineen uuden käyttötavan hyväksymiseksi olisi liitettävä asiakirjat, jotka sisältävät yksityiskohtaiset selosteet näissä suuntaviivoissa esitetyn järjestyksen ja numeroinnin mukaisesti. Jonkin näissä suuntaviivoissa vahvistetun tiedon jättäminen pois asiakirjoista on perusteltava. Julkaisut, joihin viitataan on liitettävä mukaan. Koeselosteiden on sisällettävä suunnitelma, kokeen viitenumero, kokeiden yksityiskohtainen kuvaus, tulokset ja niiden analyysi sekä tutkimuksesta vastuussa olevan henkilön nimi, osoite ja allekirjoitus. Hyvän laboratoriakäytännön valvonnasta vastuussa olevan henkilön lausunto on myös liitettävä selosteisiin.

Lisäaineen fysikaalis-kemialliset, toksikologiset ja ympäristötoksikologiset ominaisuudet on määritettävä vaarallisten aineiden luokitusta, pakkaamista ja merkintöjä koskevien lakien, asetusten ja hallinnollisten määräysten lähentämisestä annetun neuvoston direktiivin 67/548/ETY<sup>(2)</sup> mukauttamisesta tekniikan kehitykseen kuudennen kerran 25 päivänä huhtikuuta 1984 annetussa komission direktiivissä 84/449/ETY vahvistettujen menetelmien mukaisesti tai muilla tieteellisten laitosten hyväksymillä kansainvälisillä menetelmillä. Muiden menetelmien käyttö olisi perusteltava.

Jokaisessa asiakirjassa on oltava riittävä yhteenveto. Antibiootteja, kokkidiostaatteja tai muita lääkeaineita ja kasvunestäjiä koskeviin asiakirjoihin on liitettävä V luvun mallin mukainen erityisselvitys, jotta kyseinen lisäaine voidaan tunnistaa ja kuvata direktiivin 70/524/ETY 8 artiklan 1 kohdan mukaisesti.

Ilmaisulla "lisäaine" tarkoitetaan näissä suuntaviivoissa aktiivisia aineita tai aktiivisia aineita sisältäviä valmisteita siinä muodossa, jossa se lisätään esiseoksiin tai rehuihin.

Asiakirjat toimittaneen jäsenvaltion on kohtuullisen ajan kuluessa ilmoitettava komissiolle kaikki lisäaineen valmistusmenetelmiä, koostumusta, käyttöä tai käyttöolosuhteita koskevat muutokset. Tämä voi edellyttää uusien asiakirjojen toimittamista uudelleenarviointia varten. Nämä vaatimukset koskevat erityisesti niitä mikrobiperäisiä tuotteita, joissa mikrobin perinnöllisiä ominaisuuksia on muutettu keinotekoisesti tai organismeja, jotka syntyvät mutaatioiden seurauksena.

<sup>(1)</sup> EYVL N:o L 270, 14.12.1970, s. 1 ja  
EYVL N:o L 319, 8.12.1984, s. 13

<sup>(2)</sup> EYVL N:o L 251, 19.9.1984, s. 1

## SISÄLTÖ

- I LUKU: Yhteenveto asiakirjan sisältämistä tiedoista
- II LUKU: Lisäaineen tunnistaminen, kuvaus ja käyttöolosuhteet  
Tarkastusmenetelmät
- III LUKU: Lisäaineen tehoa koskevat tutkimukset
1. Rehujen laadun parantumista koskevat tutkimukset
  2. Tutkimukset lisäaineiden vaikutuksista eläintuotantoon
  3. Eläintuotteiden laatua koskevat tutkimukset
- IV LUKU: Lisäaineen käyttöturvallisuutta koskevat tutkimukset
1. Tutkimukset kohdelajeilla
    - 1.1 Lisäaineen toksikologiset tutkimukset
    - 1.2 Lisäaineen mikrobiologiset tutkimukset
    - 1.3 Vaikuttavan aineen käyttäytymistä aineenvaihdunnassa ja sen jäämiä koskevat tutkimukset
  2. Eritteissä esiintyviä jäämiä koskevat tutkimukset
  3. Tutkimukset koe-eläimillä
- V LUKU: Erillistutkimuksen malli

## I LUKU

## YHTEENVETO ASIAKIRJAN SISÄLTÄMISTÄ TIEDOISTA

## II LUKU

LISÄAINEEN TUNNISTAMINEN, KUVAUS JA KÄYTTÖOLOSUHTEET  
TARKASTUSMENETELMÄT

- 1 **Lisäaineen tunnistaminen**
  - 1.1 Markkinoille saattamista varten vaadittavat myyntinimitykset.
  - 1.2 Lisäainetyyppi pääasiallisen vaikutustavan mukaisesti (esimerkiksi antibiootti, kokkidiostaatti, histomostaatti, säilöntäaine).
  - 1.3 Fysikaalinen tila, hiukkaskoko.
  - 1.4 Laadullinen ja määrällinen koostumus (vaikuttava aine, muut ainesosat, epäpuhtaudet).
  - 1.5 Valmistusmenetelmä. Mahdolliset erityiskäsittelyt.
- 2 **Vaikuttavaa ainetta koskevat vaatimukset**
  - 2.1 Lajinimitys, kemiallinen nimitys Kansainvälisen teoreettisen ja sovelletun kemian liiton (IUPAC) nimikkeistön mukaisesti, muut ryhmänimitykset ja lyhenteet. CAS-numero ("Chemical Abstracts Service"-numero).
  - 2.2 Empiirinen ja rakenteellinen kemiallinen kaava sekä molekyylipaino. Jos vaikuttava aine on käymistuote, tärkeimpien ainesosien laadulliset ja määrälliset ominaisuudet.
  - 2.3 Puhtausaste. Epäpuhtauksien laadulliset ja määrälliset ominaisuudet.
  - 2.4 Elektrostaattiset ominaisuudet, sulamispiste, kiehumispiste, hajoamislämpötila, tiheys, höyrypaine, liukoisuus veteen ja orgaanisiin liuottimiin, massa- ja absorptiospektri sekä muut asiaa koskevat fysikaaliset ominaisuudet.
  - 2.5 Valmistus- ja puhdistusprosessit. Valmistuserien koostumuksen vaihtelu valmistuksen eri vaiheissa.  
*Huomaa:*  
Jos vaikuttava aine on vaikuttavien aineosien seos, jokainen kemiallisesti tunnistettavissa oleva, merkittävä ainesosa on kuvattava erikseen ja näiden ainesosien osuudet seoksessa on ilmoitettava.
- 3 **Lisäaineen fysikaalis-kemialliset ja tekniset ominaisuudet**
  - 3.1 Pysyvyys ilmakehän olosuhteissa (esimerkiksi valo, lämpötila, kosteus, happi).
  - 3.2 Pysyvyys esiseosten ja rehujen valmistelun aikana, erityisesti lämmön, paineen ja kosteuden osalta. Mahdolliset hajoamistuotteet.
  - 3.3 Pysyvyys esiseosten ja rehujen säilytyksen aikana (säilytysaika).
  - 3.4 Muut asiaa koskevat fysikaalis-kemialliset ja tekniset ominaisuudet, erityisesti kyky sekoittua tasaisesti esiseoksiin ja rehuihin, sekä pölyämiso-minaisuudet.
  - 3.5 Fysikaalis-kemialliset vuorovaikutukset (esimerkiksi yhteensopivuus rehujen, muiden lisäaineiden tai lääkeaineiden kanssa).
- 4 **Lisäaineen käyttöolosuhteet**
  - 4.1 Vaadittu käyttö eläinten ruokinnassa (eläinlajit tai -ryhmät, rehuluokat, käyttökausi, lopettamisaika jne.).
  - 4.2 Käytön esteet.
  - 4.3 Vaaditut pitoisuudet esiseoksissa ja rehuissa (ilmoitettuna esiseoksissa aktiivisen aineen prosenttiosuutena esiseoksen painosta ja rehuissa mg/kg).
  - 4.4 Muut vaikuttavan aineen tai valmisteeseen tunnetut käytettävät (elintarvikkeissa, lääketieteessä tai eläinlääketieteessä, maataloudessa jne.). Jokaisen käytettävän osalta ilmoitettava tuotteen myyntinimitykset, vaikutukset ja vastaoireet.
  - 4.5 Tarvittaessa toimenpiteet vaarojen ehkäisemiseksi sekä suojautumiskeinot valmistuksen ja käsittelyn aikana.
- 5 **Tarkastusmenetelmät**
  - 5.1 Edellä 1.4, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 ja 4.3 kohdassa lueteltujen kriteerien määrittämiseksi käytettävien menetelmien kuvaus.
  - 5.2 Kuvaus rutiinitarkastuksiin tarkoitetuista laadullisista ja määrällisistä analyysimenetelmistä lisäaineen tarkastamiseksi esiseoksista ja rehuista.

- 5.3 Kuvaus laadullisista ja määrällisistä analyysimenetelmistä eläintuotteissa olevien lisäainejäämien määrittämiseksi.
- Huomaa:
- Kuvattuihin menetelmiin olisi liitettävä tiedot luotettavuustasosta, erityisyydestä, herkkyydestä, mahdollisista häiritsevästä tekijöistä, havaitsemisen raja-arvoista, toistettavuudesta ja näytteenottoon käytettävästä menetelmästä. Valmisteen ja vaikuttavan aineen mallimitat on oltava saatavilla.

### III LUKU

#### LISÄAINEEN TEHOA KOSKEVAT TUTKIMUKSET

##### 1 Rehujen laadun parantumista koskevat tutkimukset

Nämä tutkimukset koskevat teknisiä lisäaineita, kuten hapettumisenestoaineita, säilöntäaineita, emulgointiaineita, hyytelöimisaineita, joiden tarkoituksena on parantaa esiseosten ja rehujen laatua tai säilyvyyttä.

Lisäaineen teho olisi osoitettava asianmukaisten kriteerien avulla niissä olosuhteissa, joissa lisäainetta vaaditaan käytettäväksi, vertaamalla sitä tarkkailurehuihin ja mahdollisesti myös vaikutuksiltaan tunnettuja teknisiä lisäaineita sisältäviin rehuihin.

Tutkittavien vaikuttavien aineiden, valmistajien, esiseosten ja rehujen tarkka laatu, erien viitenumerot, vaikuttavan aineen pitoisuus esiseoksessa ja rehussa, koeolosuhteet (lämpötila, kosteus jne.), kokeiden päivämäärät ja kesto, haittavaikutukset ja myös muut kokeen aikana ilmenneet kielteiset vaikutukset on ilmoitettava yksityiskohtaisesti jokaisen kokeen osalta.

##### 2 Tutkimukset lisäaineiden vaikutuksista eläintuotantoon

Nämä tutkimukset koskevat kotieläinjalostuksen lisäaineita, kuten antibiootteja, kasvunestäjiä, kokkidioostaatteja ja muita eläintuotantoon vaikuttavia lääkeaineita. Seuraavat tutkimukset olisi suoritettava kulakin kohdelajilla vertaamalla tutkittavaa ainetta tai valmistetta ainetta sisältämättömiin tarkkailuryhmiin ja mahdollisesti vaikutuksiltaan tunnettuja teknisiä lisäainetta sisältäviä rehuja saaviin ryhmiin.

- 2.1 Antibioottien ja kasvunestäjien osalta on suoritettava tutkimus vaikutuksista rehun hyötysuhteeseen, eläinten kasvuun ja tuotokseen.
- 2.2 Kokkidioostaattien ja muiden lääkeaineiden osalta olisi ensisijaisesti osoitettava erityisvaikutukset ja etenkin ennaltaehkäisevät ominaisuudet (kuten sairastuvuus ja kokkidien määrä ulosteessa, haittavaikutusten arviointi). Tiedot vaikutuksista rehun hyötysuhteeseen, eläinten kasvuun sekä kaupan pidettävien eläintuotteiden määrään ja laatuun olisi liitettävä mukaan.
- 2.3 Koeolosuhteet
- Kukin suoritettu koe on erikseen kuvattava yksityiskohtaisesti. Koetallenteen on oltava tilastollisella analyysillä vahvistettavissa. Seuraavat tiedot on ilmoitettava:
- 2.3.1 Eläinten laji ja -rotu, ikä, sukupuoli, eläinten tunnistamismenettely.
- 2.3.2 Kokeiden ja tarkkailuryhmien lukumäärä, eläinten lukumäärä kussakin ryhmässä. Molempaa sukupuolta edustavien koe-eläinten lukumäärä on oltava tilastollista käsittelyä varten riittävä.
- 2.3.3 Tarkastusanalyysillä on varmistettava rehun sisältämän vaikuttavan aineen pitoisuus. Erien viitenumerot. Päiväannoksen laadullinen ja määrällinen ravintoainekoostumus.
- 2.3.4 Kokeiden suorituspaikat, eläinten fysiologinen ja terveydellinen tila, ruokinta- ja hoito-olosuhteet yhteisön yleisen käytännön mukaisesti.
- 2.3.5 Kokeiden päivämäärät ja tarkka kesto, suoritettujen tutkimusten päivämäärät.
- 2.3.6 Haittavaikutukset ja muut kokeiden aikana ilmenneet kielteiset vaikutukset sekä niiden havaitsemisaika.
- 3 **Eläintuotteiden laatua koskevat tutkimukset**
- Lisäaineita sisältävää rehua saaneiden eläinten ravinnoksi kelpaavien tuotteiden aistivaraisia, ravitsemuksellisia, hygieenisiä ja teknisiä laatutekijöitä koskevat tutkimukset.

## IV LUKU

## LISÄAINEEN KÄYTTÖTURVALLISUUTTA KOSKEVAT TUTKIMUKSET

Tämän luvun tutkimuksilla arvioidaan

- lisäaineen turvallista käyttöä kohdelajeilla,
- kuluttajille elintarvikkeiden lisäainejäämistä aiheutuvia vaaroja,
- lisäainetta sellaisenaan tai lisäainetta sisältäviä esiseoksia tai rehuja käsitteleville henkilöille aineen joutumisesta hengitysteihin tai iholle aiheutuvia vaaroja,
- ympäristön pilaantumista lisäaineista peräisin olevien aineiden ja niiden ulosteisiin kulkeutumisen seurauksena.

Nämä tutkimukset vaaditaan suoritettaviksi joko kokonaan tai osittain aina lisäaineen laadun ja ehdotettujen käyttöolosuhteiden mukaan. Tiedot vaikuttavan aineen käyttäytymisestä eri kohdelajien aineenvaihdunnassa samoin kuin kudoksista havaittujen jäämien kulkeutumisesta elimistöön ovat välttämättömiä koe-eläimillä tehtävien tutkimusten laajuutta määritettäessä kuluttajille aiheutuvien vaarojen arvioimiseksi. Lisäksi tiedot lisäaineperäisten, ulosteissa havaittavien jäämien koostumuksesta sekä fysikaalis-kemiallisista ja biologisista ominaisuuksista ovat välttämättömiä määritettäessä ympäristön pilaantumisen vaaraa selvittävien tutkimusten laajuutta.

## 1 Tutkimukset kohdelajeilla

### 1.1 Lisäaineen toksikologiset tutkimukset

Sietokykykokeet. Biologiset, toksikologiset, makroskooppiset ja histologiset vaikutukset. Turvallisuustekijän määrittäminen (suurimman ehdotetun annostason ja haittavaikutuksia aiheuttavan annostason raja). Jos voidaan osoittaa, että haittavaikutuksia aiheuttava annostaso on huomattavasti suurempi kuin suurin ehdotettu annostaso, on riittävää ilmoittaa ainoastaan vähimmäis- tai likiarvo.

### 1.2 Lisäaineen mikrobiologiset tutkimukset

1.2.1 Lisäaineen mikrobiologinen vaikutusalue tutkitaan määrittämällä pienin mikrobin kasvua estävä pituus käyttäen patogeenisiä ja muita kuin patogeenisiä gram-negatiivisia ja gram-positiivisia bakteereita.

1.2.2 Ristiresistenssin esiintyminen terapeuttisia antibiootteja vastaan tutkitaan määrittämällä *in vitro* tuotteilla mutanteilla, joilla on kromosomissa resistenssitekijä lisäainetta vastaan.

1.2.3 Tutkimukset, joilla selvitetään lisäaineen aiheuttaman resistenssitekijän valikoituminen. Nämä tutkimukset on suoritettava kenttäolosuhteissa niillä eläinlajeilla, joille lisäaine on ensisijaisesti tarkoitettu. Lisäksi on määritettävä, sisältävätkö havaitut R tekijät useita resistenssitekijöitä ja ovatko ne siirtyviä.

1.2.4 Tutkimukset lisäaineen vaikutuksista suoliston tavanomaiseen mikrobistoon ja tämän mikrobiston siirtymisestä suolistossa sekä tautia aiheuttavien mikrobin kulkeutumiseen ulosteiden mukana.

1.2.5 Kenttätutkimukset lisäaineelle vastustuskykyisten bakteerien prosenttiosuuden selvittämiseksi. Nämä tutkimukset suoritetaan tietyin väliajoin ennen lisäaineen käyttöä ja käytön aikana (seuranta).

### 1.3 Vaikuttavan aineen käyttäytymistä aineenvaihdunnassa ja sen jäämiä koskevat tutkimukset<sup>(1)(2)</sup>

1.3.1 Aineenvaihdunnan tasapainon tutkimukset: nopeus ja laajuus, jolla vaikuttava aine poistuu elimistöstä virtsan ja ulosteiden sekä mahdollisesti uloshengityksen mukana; jäämät kohdelajeilla.

1.3.2 Aineenvaihduntatutkimukset: imeytyminen, jakaantuminen, muuttuminen biologisesti ja hajoaminen. Jos aiheellista, on arvioitava sapon kautta tapahtuva erityis, maksan sisäisestä kierrosta löytyvä määrä ja vaikutus suolistometaboliaan.

1.3.3 Jäämätutkimukset: jäämien laadullinen ja määrällinen koostumus (vaikuttava aine ja hajoamistuotteet) eläimillä eri elimissä, kudoksissa ja eläinperäisissä syötävissä tuotteissa, kun aineenvaihdunta on tasapainotilassa lisäainekäytön aikana.

<sup>(1)</sup> Tutkimukset, joita tarkoitetaan 1.3.1, 1.3.2, 1.3.4 ja 1.3.5 kohdassa, olisi mieluummin suoritettava merkityillä molekyyileillä. Merkinnän olisi oltava aiottuun tarkoitukseen sopiva.

<sup>(2)</sup> Jos vaikuttava aine on käymistuote, nämä tutkimukset on laajennettava koskemaan valmistuksen yhteydessä syntyviä aineita.

- 1.3.4 Jäämien farmakokineettinen tutkimus (seuraa ehdotettua toistuvaa lisäaineen antamista): vaikuttavan aineen ja sen tärkeimpien hajoamistuotteiden säilyvyys eri elimissä ja kudoksissa täydennetyin rehun antamisen päätyttyä.
- 1.3.4 Tutkimukset biokertyvyydestä kudoksiin ja kohdelajien tuotantoon (ks. 3.8 kohta).
- 1.3.6 Tarkastusmenetelmät: ne laadun ja määrän määrittämisen menetelmät, joita käytetään 1.3.1–1.3.5 kohdassa tarkoitettujen ominaisuuksien määrittämiseksi ja joissa on tiedot luotettavuustasosta, erityisyydestä ja havaitsemisen raja-arvoista. Jäämien määritysmenetelmien on oltava riittävän herkkiä, jotta jäämäpitoisuudet voidaan havaita tarkkuudella, joka ei ole toksikologisesti merkittävä.

## 2 Eritteissä esiintyviä jäämiä koskevat tutkimukset

- 2.1 Lisäainejäämien laatu ja pitoisuus eritteissä (vaikuttava aine, hajoamistuotteet).
- 2.2 Jäämien pysyvyys (puoliintumisaika) ja niiden häviämisen nopeus lietalannassa, lannassa ja jätteissä.
- 2.3 Vaikutukset metaanin muodostumiseen.
- 2.4 Hajoaminen, pysyvyys (puoliintumisaika) sekä häviäminen maaperästä (eri maatyypeillä).
- 2.5 Vaikutukset maaperän eliöstöön ja mikrobiologiseen ravinnonkiertoon (kasvi- ja eläinjätteen hajoaminen, typen kierto jne.).
- 2.6 Vaikutukset maaperän kasveihin (siementen itävyys, kasvien kasvu, kasvien ravinnonotto jne.). Nämä tutkimukset on suoritettava valvotuissa olosuhteissa ja kenttäolosuhteissa eri kasvilajeja käyttämällä.
- 2.7 Lisäaineperäisten tuotteiden (vaikuttava aine, hajoamistuotteet) liukoisuus ja pysyvyys vedessä.
- 2.8 Vaikutukset vedessä tapahtuvaan elämään.
- 2.8.1 Vaikutukset eliöstöön (esim. *Chlorella*).
- 2.8.2 Toksisuus selkärangattomilla (esim. *Daphnia magna*).
- 2.8.3 Toksisuus kaloilla (vähintään kahdella yhteisön alueella tavattavalla luonnon kalalajilla).

## 3 Tutkimukset koe-eläimillä

Nämä tutkimukset on suoritettava vaikuttavalla aineella ja sen tärkeimmillä aineenvaihduntatuotteilla, jos jälkimmäisiä esiintyy syötävissä eläintuotteissa ja ne kulkeutuvat elimistöön. Koe-eläimet valitaan siten, että lisäaineen aineenvaihdunta niissä muistuttaa ihmisen aineenvaihduntaa mahdollisimman tarkasti.

Kaikki kokeita koskevat tiedot on esitettävä yksityiskohtaisesti. Niissä on oltava käytetyt eläinlajit ja -rodut, koe- ja tarkkailuryhmien koko ja lukumäärä, annetut annostukset, ravinnon koostumus ja rehuanalyysit, kasvatusolosuhteet, kokeiden tarkka kesto, suoritettujen tutkimusten päivämäärät ja kuolleisuus. Yksityiskohtaiset tiedot makroskooppisista patologisista ja histopatologisista löydöksistä on ilmoitettava kaikkien kokeisiin osallistuneiden eläinten osalta ja samalla on ilmoitettava havaitsemisajankohta, jona ensimmäiset patologisiin vaurioihin viittaavat oireet ilmenivät. Kaikki tulokset ja niiden tilastollinen arviointi on esitettävä yksityiskohtaisesti.

### 3.1 Akuutti toksisuus

- 3.1.1 Akuutin oraalisin toksisuuden tutkimukset on suoritettava kahdella eläinlajilla, joista toisen tulisi mieluummin olla rotta. Enimmäisannostelu ei saa olla suurempi kuin 2 000 mg/kg ruumiinpainoa kohti. Yksityiskohtaiset havainnot biologisista vaikutuksista olisi esitettävä vähintään kahden viikon ajalta aineen antamisesta alkaen.
- 3.1.2 Tutkimukset akuutista hengitystietoksisuudesta, ihoärsytyksestä ja tarvittaessa myös limakalvoärsytyksestä sekä allergeenisuudesta on suoritettava tarkoitukseen soveltuvilla kokeilla mahdollisten lisäaineen käsittelyyn liittyvien vaarojen arvioimiseksi.

### 3.2 Mutageenisuus

Vaikuttavien aineiden tai niiden hajoamistuotteiden mutageenisten ominaisuuksien tunnistamiseksi on suoritettava valikoitu mutageenisuuden yhdistelmäkoee, joka perustuu erilaisiin geneettisiin päätekohtiin. Nämä kokeet on suoritettava sekä ilman aineenvaihduntaa aktivoivaa mikrosomaalista eläinsoluvalmistetta että sen kanssa.

Seuraavaa koeyhdistelmää suositellaan:

- a) geenimutaatiokoe prokaryoteilla;
- b) geenimutaatiokoe soluviljelmissä eukaryoteilla tai *Drosophila melanogasterilla* suoritettava sukupuoleen sidottu resessiiviletaalikoe;
- c) kromosomivauriokoe *in vitro* ja *in vivo*.

Edellä esitetty koeyhdistelmä ei kuitenkaan merkitse sitä, että muut kokeet olisivat sopimattomia tai että muut kokeet, erityisesti *in vivo* kokeet, eivät olisi vaihtoehtoisesti hyväksyttäviä.

Kaikissa tapauksissa kokeiden valintaperusteet on tarpeen ilmoittaa. Kokeet on suoritettava vahvistettujen menettelyjen mukaisesti. Kokeiden tulosten mukaan ja ottaen huomioon aineen koko toksisuus sekä sen aiottu käyttötarkoitus, voidaan myös tehdä lisätutkimuksia.

### 3.3 *Aineenvaihdunnalliset ja farmakokineettiset tekijät*

Hajoamistuotteiden tasapainotilaa ja tunnistamista koskevat tutkimukset on suoritettava sopivia merkittäviä molekyyliä käyttämällä sekä vaikuttavan aineen kerta-annoksen että moninkertaisen useassa osassa annettavan annoksen muodossa. Aineenvaihduntatutkimusten on sisällettävä myös tutkimukset vaikuttavan aineen ja sen tärkeimpien hajoamistuotteiden farmakokineettisistä ominaisuuksista. Toksikologisiin tutkimuksiin parhaiten soveltuvaa lajia valittaessa on erityisesti kiinnitettävä huomiota niihin eroihin, kuinka eri lajit metaboloivat vaikuttavan aineen.

### 3.4 *Subkrooninen toksisuus*

Tutkimukset on suoritettava yleensä kahdella eläinlajilla, joista toinen mieluummin rotta. Toinen laji voi tietyissä tapauksissa olla kohde-eläinlaji.

Aine annetaan suun kautta ja annos/vaste-suhde on määritettävä. Jyrsijöillä kokeen keston on oltava vähintään 90 päivää.

Tietyissä tapauksissa on suotavaa, että koirilla ja muilla eläimillä kuin jyrsijöillä koetta jatketaan kuudesta kuukaudesta kahteen vuoteen, jotta saadaan selvitettyä eri eläinlajien herkkyyks kyseiselle aineelle.

### 3.5 *Krooninen toksisuus/karsinogeenisuus*

Kroonisen toksisuuden tutkimukset on suoritettava yhdellä lajilla (mieluummin rotta); karsinogeenisuus-kokeet mieluummin kahdella jyrsijälajilla. Aine annetaan suun kautta useana eri annostasona. Yhdistetty krooninen toksisuus/karsinogeenisuustutkimus, johon liittyy kohtuallisuus, hyväksytään myös. Kokeiden kesto on rotilla vähintään kaksi vuotta ja hiirillä vähintään 80 viikkoa. Jos koetta jatketaan yli vähimmäisajan, se on lopetettava, kun muussa kuin suurimman annostason koeryhmässä, elossa olevien prosenttiosuus on laskenut 20 %:iin. Täydellinen kliininen, hematologinen ja virtsan tutkimus on suoritettava sopivien väliajoin koko kokeen ajan. Täydellinen makroskooppinen ja histologinen tutkimus on suoritettava kaikille kokeen aikana kuolleille eläimille sekä kokeen päättyessä elossa oleville eläimille.

### 3.6 *Lisääntymistoksisuus*

Lisääntymiseen liittyvät tutkimukset tehdään mieluummin rotilla. Kokeen kesto on vähintään kaksi peräkkäistä sukupolvea ja siihen voidaan yhdistää tutkimukset sikiötoksisuudesta, joka sisältää teratogeeniset tutkimukset. Kaikki hedelmällisyyteen, tiineyteen, synnytykseen, syntymää edeltävään tai syntymän jälkeiseen aikaan liittyvät olennaiset tekijät on huolellisesti tutkittava ja selostettava. Erityiset teratogeenisuustutkimukset on suoritettava vähintään kahdella sopivalla eläinlajilla.

### 3.7 *Biokertyvyys*

Tutkimukset merkityn vaikuttavan aineen jäämistä kudoksissa ja kohde-eläinlajien tuotannossa edellyttävät elimistöön kulkeutumisen asteen määrittämistä, millä tarkoitetaan vähintään jäämien tasapainotutkimuksia koe-eläimillä.

### 3.8 *Aineenvaihduntatuotteiden toksisuus*

Tiedot jäämätöisyyksien laskemisesta on esitettävä ihmiselle aiheutuvien vaarojen arvioimiseksi.

Laskentaperusteet on esitettävä ehdotetulta tutkimusajankohdalta.

### 3.9 *Muut tutkimukset*

Kaikki muut tutkimukset, joista saadaan hyödyllistä lisätietoa kyseisen aineen arvioimiseksi voidaan esittää, esimerkiksi tutkimukset edelleen välittyneestä toksisuudesta.

## V LUKU

## ERILLISTUTKIMUKSEN MALLI

**1 Lisäaineen ominaislaatu**

- 1.1 Lisäainetyyppi pääasiallisen vaikutustavan mukaisesti (esimerkiksi antibiootti, kokkidiostaatti, histomostaatti, kasvunestäjä).
- 1.2 Fysikaalinen tila, hiukkaskoko.
- 1.3 Laadullinen ja määrällinen koostumus (vaikuttava aine, muut ainesosat, epäpuhtaudet).
- 1.4 Mahdolliset erityiskäsittelyt.

**2 Vaikuttavaa ainetta koskevat vaatimukset**

- 2.1 Ryhmänimitys, kemiallinen nimitys IUPAC:n nimikkeistön mukaisesti, muut ryhmänimet ja lyhenteet. "Chemical Abstracts Service"-numero (CAS).
- 2.2 Empiirinen ja rakenteellinen kaava sekä molekyylipaino. Jos vaikuttava aine on käymistuote, tärkeimpien aineosien laadulliset ja määrälliset ominaisuudet.
- 2.3 Puhtausaste. Epäpuhtauksien laadulliset ja määrälliset ominaisuudet.
- 2.4 Asiaa koskevat fysikaaliset ominaisuudet erityisesti elektrostaattiset ominaisuudet, sulamispiste, kiehumispiste, hajoamislämpötila, tiheys, höyrypaine, liukoisuus veteen ja orgaanisiin liuottimiin, absorptiospektri jne.

*Huomaa:*

Jos vaikuttava aine on vaikuttavien aineiden seos, jokainen kemiallisesti tunnistettavissa oleva, merkittävä ainesosa on kuvattava erikseen ja näiden ainesosien osuus seoksessa on ilmoitettava.

**3 Lisäaineen fysikaalis-kemialliset ja tekniset ominaisuudet**

- 3.1 Pysyvyys ilmakehän olosuhteissa (esim. valo, lämpötila, kosteus ja happi)
- 3.2 Pysyvyys esiseosten ja rehujen valmistuksessa, erityisesti lämmön, paineen ja kosteuden osalta. Mahdolliset hajoamistuotteet.
- 3.3 Pysyvyys esiseosten ja rehujen säilytyksen aikana (säilytysaika).
- 3.4 Muut asiaa koskevat fysikaalis-kemialliset ja tekniset ominaisuudet, erityisesti kyky sekoittua tasaisesti esiseoksiin ja rehuihin, sekä pölyämiso-minaisuudet.
- 3.5 Fysikaalis-kemialliset vuorovaikutukset (esimerkiksi yhteensopivuus rehujen, muiden lisäaineiden tai lääkeaineiden kanssa).

**4 Tarkastusmenetelmät**

- 4.1 Kuvaus menetelmistä 1.3, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3 ja 3.4 kohdassa lueteltujen kriteerien määrittämiseksi.
- 4.2 Kuvaus eläintuotteissa olevien lisäainejäämien laadullisista ja määrällisistä analyysimenetelmistä.
- 4.3 Jos edellä tarkoitetut menetelmät on julkaistu, riittää kirjallisuusviite.

**5 Lisäaineen biologiset ominaisuudet**

- 5.1 Tiedot kokkidiostaattien ja muiden lääkeaineiden ennaltaehkäisevistä ominaisuuksista (sairastuvuus, kokkidien määrä ulosteissa, jne.).
- 5.2 Tiedot lisäaineen vaikutuksista rehun hyötysuhteeseen, eläinten kasvuun ja eläintuotteiden laatuun antibioottien ja kasvunestäjien osalta.
- 5.3 Vastavaikutukset tai varoitukset mukaan lukien tiedot biologisesta yhteensopimattomuudesta perustelluineen.

**6 Yksityiskohtaiset tiedot niiden mahdollisten jäämien määrästä ja laadusta, jotka esiintyvät eläinperäisissä tuotteissa oletetun lisäaineen käytön jälkeen.****7. Muut ominaisuudet, jotka soveltuvat lisäaineen tunnistamiseen.**