

394L0040

11.8.94

EUROOPAN YHTEISÖJEN VIRALLINEN LEHTI

N:o L 208/15

**KOMISSION DIREKTIIVI 94/40/EY,**

annettu 22 päivänä heinäkuuta 1994,

eläinten rehuissa käytettävien lisäaineiden arvioinnin suuntaviivoista  
annetun neuvoston direktiivin 87/153/ETY muuttamisesta

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

tässä direktiivissä säädetyt toimenpiteet ovat pysyvän  
rehukomitean lausunnon mukaiset,

ottaa huomioon Euroopan yhteisön perustamissopimuksen,

ON ANTANUT TÄMÄN DIREKTIIVIN:

ottaa huomioon rehujen lisäaineista 23 päivänä marraskuuta  
1970 annetun neuvoston direktiivin 70/524/ETY<sup>(1)</sup>, sel-  
laisena kuin se on viimeksi muutettuna komission  
direktiivillä 94/17/EY<sup>(2)</sup>, ja erityisesti sen 9 artiklan  
2 kohdan,*1 artikla*Korvataan direktiivin 87/153/ETY liite tämän direktiivin liit-  
teellä.

sekä katsoo, että

*2 artikla*direktiivissä 70/524/ETY säädetään eläinten rehuissa  
käytettävien lisäaineiden arvioinnin suuntaviivoista, jotka  
on myöhemmin vahvistettu neuvoston direktiivissä  
87/153/ETY<sup>(3)</sup>, ja niiden mukauttamisesta tarvittaessa  
tieteellisen ja teknisen tietämyksen kehitykseen,Jäsenvaltioiden on saatettava voimaan tämän direktiivin  
säännösten noudattamisen edellyttämät lait, asetukset ja hal-  
linnolliset määräykset viimeistään 1 päivänä lokakuuta 1994.  
Niiden on ilmoitettava tästä komissiolle viipymättä.näitä suuntaviivoja on tarpeen täydentää, jotta saataisiin  
arviointiperusteita mikro-organismien ja entsyymien käyt-  
töä rehujen lisäaineina koskevien lupahakemusten  
tarkastelua varten,Näissä jäsenvaltioiden antamissa säännöksissä on viitattava  
tähän direktiiviin tai niitä virallisesti julkaistaessa niihin on  
liitettävä viittaus tähän direktiiviin. Jäsenvaltioiden on  
säädetävä siitä, miten viittaukset tehdään.neuvoston direktiivin 93/114/EY<sup>(4)</sup> säännösten mukaisesti  
yhteisön lisäaineiden luvanantomenettelyyn olisi sisäl-  
lytettävä geneettisesti muunnettujen organismien  
tarkoituksellisesta levittämisestä ympäristöön 23 päivänä  
huhtikuuta 1990 annetun neuvoston direktiivin  
90/220/ETY<sup>(5)</sup>, sellaisena kuin se on muutettuna komission  
direktiivillä 94/1557/EY<sup>(6)</sup>, ympäristölle aiheutuvien  
vaarojen erityistä arviointia koskevat säännökset, jotta niitä  
voitaisiin soveltaa kaikkiin geneettisesti muunnetuista  
organismeista koostuviin tai niitä sisältäviin lisäaineisiin;  
tämän seurauksena olisi muutettava direktiiviä 87/153/ETY  
direktiivin 90/220/ETY säännösten noudattamiseksi,*3 artikla*Tämä direktiivi tulee voimaan kahdentenakymmenentenä  
päivänä sen jälkeen, kun se on julkaistu *Euroopan yhteisöjen*  
*virallisessa lehdessä*.tehtävien muutosten suuren lukumäärän vuoksi vaikuttaa  
aiheelliselta koota sovellettavat suuntaviivat kokonaisuudes-  
saan tämän direktiivin liitteeseen, ja

Tehty Brysselissä 22 päivänä heinäkuuta 1994.

*Komission puolesta*

René STEICHEN

*Komission jäsen*<sup>(1)</sup> EYVL N:o L 270, 14.12.1970, s. 1<sup>(2)</sup> EYVL N:o L 105, 26.4.1994, s. 19<sup>(3)</sup> EYVL N:o L 64, 7.3.1987, s. 19<sup>(4)</sup> EYVL N:o L 334, 31.12.1993, s. 24<sup>(5)</sup> EYVL N:o L 117, 8.5.1990, s. 15<sup>(6)</sup> EYVL N:o L 103, 22.4.1994, s. 20

## LIITE

## SUUNTAVIIVAT REHUJEN LISÄAINEIDEN ARVIOIMISEKSI

## YLEISIÄ NÄKÖKOHTIA

Nämä suuntaviivat on tarkoitettu ohjeeksi niiden asiakirjojen laatimisessa, joilla haetaan aineen tai valmisteen hyväksymistä rehujen lisäaineena käytettäväksi. Näiden asiakirjojen perusteella on oltava mahdollista suorittaa sen hetkiseen tietoon perustuva lisäaineiden arviointi ja niiden avulla on voitava varmistaa, että lisäaineet ovat direktiivin 70/524/ETY 7 artiklan 2 kohdassa hyväksymiselle säädettyjen peruseriaatteiden mukaisia.

Kaikkia näissä suuntaviivoissa tarkoitettuja tutkimuksia voidaan vaatia ja tarvittaessa voidaan pyytää lisätietoja. Yleisenä sääntönä voidaan pitää, että on suoritettava tutkimukset lisäaineen tunnistamisesta, käyttöolosuhteista ja fyysikaalis-kemiallisista ominaisuuksista, lisäaineen määritysmenetelmistä ja tehokkuudesta, lisäaineen käyttäytymisestä aineenvaihdunnassa sekä biologisista ja toksikologisista vaikutuksista kohdelajeihin. Jos lisäaine on tarkoitettu tiettyyn lajiin kuuluvalla eläinryhmälle, tutkimukset on suoritettava tälle kohderyhmälle. 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 sellaisten tuotantoeläinten ruokinnassa käytettäviltä lisäaineilta, joista saatavat tuotteet on tarkoitettu ihmisravinnoksi. 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. Lemmikkieläinten osalta ei tarvitse analysoida lisäainejäämiä.

Tuotantoeläinten osalta lisäaineen käyttäytymisestä aineenvaihdunnassa sekä sen jäämistä ja niiden kertymisestä elimistöön on 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. Näiden perusteella 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. Julkaisu, joihin viitataan, on liitettävä mukaan. Koeselosteiden on sisällettävä suunnitelma, kokeen viitenumero ja sen alkamis- ja päättymispäivämäärät, kokeiden yksityiskohtainen kuvaus, tulokset ja niiden analyysi sekä tutkimuksesta vastuussa olevan henkilön nimi, osoite ja allekirjoitus. Kunkin eläinkokeissa käyttävän rehuerän osalta on määritettävä aktiivisten aineiden pitoisuus tarkoituksenmukaisena pidettävän menetelmän mukaisesti ja annettava yhteenveto määrityksen tuloksista. Tässä yhteenvedossa on mainittava kussakin kokeessa mitattujen yksittäisten määrien lisäksi kokeen päivämäärä ja siinä on oltava tarkastuksista vastaavan henkilön nimi, osoite ja allekirjoitus. Selosteisiin on liitettävä kokeet suorittane(id)en laboratorio(id)en laatima todistus siitä, että kokeet on tehty hyvän laboratorion käytännön periaatteiden noudattamista kemiallisten aineiden kokeissa ja periaatteiden noudattamisen todentamista koskevien lakien, asetusten ja hallinnollisten määräysten lähentämisestä 18 päivänä joulukuuta 1986 annetun neuvoston direktiivin 87/18/ETY<sup>(1)</sup> mukaisesti hyvän laboratorion käytännön periaatteita noudattaen.

Lisäaineen fyysikaalis-kemialliset, toksikologiset ja ympäristötoksikologiset ominaisuudet on määritettävä vaarallisten aineiden luokitusta, pakkaamista ja merkintöjä koskevien lakien, asetusten ja hallinnollisten määräysten lähentämisestä 27 päivänä kesäkuuta 1967 annetussa neuvoston direktiivissä 67/548/ETY<sup>(2)</sup>, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna komission direktiivillä 93/105/ETY<sup>(3)</sup>, 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, kasvutekijöitä, mikro-organismeja ja/tai entsyymaattisia valmisteita koskeviin asiakirjoihin on liitettävä lisäksi 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 ne lisätään esiseoksiin tai rehuihin. Aktiivinen aine voi olla kemiallisesti määritelty aine, mikro-organismi tai entsyymaattinen valmiste.

Ilmaisulla 'kemiallisesti määritelty aineet' tarkoitetaan näissä suuntaviivoissa aineita, joille on annettu kemiallinen nimi Kansainvälisen puhtaan ja sovelletun kemian liiton (IUPAC) nimikkeistön mukaan.

(<sup>1</sup>) EYVL N:o L 15, 17.1.1987, s. 29

(<sup>2</sup>) EYVL N:o L 196, 16.8.1987, s. 1

(<sup>3</sup>) EYVL N:o L 294, 30.11.1993, s. 21

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 sellaisista mikro-organismeista saatavia tuotteita, joiden perinnöllisiä ominaisuuksia on muutettu tai jotka ovat syntyneet luonnollisten mutaatioiden seurauksena.

## SISÄLTÖ

I LUKU: Yhteenveto asiakirjan sisältämistä tiedoista

II LUKU: Lisäaineen tunnistaminen, kuvaus ja käyttöolosuhteet — Tarkastusmenetelmät

III LUKU: Lisäaineen tehoa koskevat tutkimukset

1. Rehujen ominaisuuksien parantumista koskevat tutkimukset

2. Tutkimukset lisäaineiden vaikutuksista eläintuotantoon

3. Eläintuotteiden laatua koskevat tutkimukset

IV LUKU: Lisäaineen käytöturvallisuutta koskevat tutkimukset

1 Tutkimukset kohdelajeilla

1.1 Lisäaineen toksikologiset tutkimukset

1.2 Lisäaineen mikrobiologiset tutkimukset

1.3 Aineenvaihduntaa ja jäämiä koskevat tutkimukset

2 Erittelyssä 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 Ehdotettu myyntinimitys tai -nimitykset.
- 1.2 Lisäainetyyppi pääasiallisen vaikutustavan mukaisesti.
- 1.3 Laadullinen ja määrällinen koostumus (aktiivinen aine, muut ainesosat, epäpuhtaudet).
- 1.4 Fysikaalinen tila, hiukkaskoko.
- 1.5 Valmistusmenetelmä, mukaan lukien mahdolliset erityiskäsittelyt.

*HUOM.:* Jos aktiivinen aine on aktiivisten ainesosien seos, joista kunkin on oltava tarkasti määriteltävissä, pääasialliset ainesosat on kuvattava erikseen ilmoittaen niiden osuuden seoksessa.

## 2 Aktiivista ainetta koskevat vaatimukset

- 2.1 Kemiallisesti määriteltyjen aineiden osalta: lajinnimitys, kemiallinen nimitys Kansainvälisen puhtaan ja sovelletun kemianliiton (IUPAC) nimikkeistön mukaisesti, muut kansainväliset ryhmänimitykset ja lyhenteet. CAS-numero ("Chemical Abstracts Service"-numero).

Mikro-organismien osalta: nimitys ja taksonominen kuvaus kansainvälisten nimikkeistökoodien mukaisesti. Myös muita kansainvälisesti tunnettuja luokittelukäsikirjoja voidaan käyttää<sup>(1)</sup>.

Entsymaattisten valmisteiden osalta: nimitys IUB/IUPACin kuvaamien pääasiallisten entsymaattisten toimintojen mukaisesti. EINECS- ja CAS-numerot.

- 2.2 Empiirinen ja rakenteellinen kemiallinen kaava sekä molekyylipaino. Käymistuotteiden osalta tärkeimpien ainesosien laadullinen ja määrällinen koostumus.

Mikro-organismien osalta: viljelmän nimitys ja paikka kokoelmassa, johon kanta on tallennettu, jos mahdollista Euroopan yhteisön kokoelmassa, tallennusnumero, geneettinen muuntaminen ja kaikki tunnistamisen kannalta merkittävät ominaisuudet. Lisäksi alkuperä, asianmukaiset morfologiset ja fysiologiset ominaisuudet, kehitysvaiheet, mikro-organismien biologiseen aktiivisuuteen (lisäaineena) mahdollisesti vaikuttavat merkittävät tekijät ja muut tunnistamiseen tarvittavat geneettiset tiedot. Pesäkkeitä muodostavien yksiköiden (CFU) lukumäärä grammaa kohti.

Entsymaattisten valmisteiden osalta: biologinen alkuperä (mikrobialkuperän ollessa kyseessä: viljelmän nimitys ja paikka kokoelmassa, johon kanta on tallennettu, jos mahdollista Euroopan yhteisön kokoelmassa, tallennusnumero, geneettinen muuntaminen ja kaikki tunnistamisen kannalta merkittävät ominaisuudet, mukaan lukien geneettiset tiedot), toiminta suhteessa sopivan tyyppisiin kemiallisesti puhtaisiin substraatteihin; muut fysikaalis-kemialliset ominaisuudet.

## 2.3 Puhtausaste

Epäpuhtauksien laadullinen ja määrällinen koostumus.

Mikro-organismien osalta: geneettinen pysyvyys ja viljeltyjen kantojen puhtaus.

Entsymaattisten valmisteiden osalta:

- puhtaus, mittaamalla mikrobisaastumisen taso, raskasmetallit, alkuperäisestä organismista peräisin olevien toksiinien puuttuminen (esimerkiksi mykotoksiinit) asianmukaisen menetelmän avulla osoitettuna,
- antimikrobisen toiminnan puuttuminen rehussa käytettynä pitoisuutena asianmukaisen menetelmän avulla osoitettuna,
- muun kuin entsymaattisen ainesosan tai ainesosien koostumus [erityisesti orgaanisten kiintoaineiden kokonaismäärä (OAK)<sup>(2)</sup>].

<sup>(1)</sup> Kuten *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Yeasts, a taxonomic study*, Lodder ja Kreger van Rij, *Ainsworth and Biby's Dictionary of the Fungi*, Hawksworth, Sutton ja Ainsworth tai *The Genus Aspergillus*, Raper ja Fennel.

<sup>(2)</sup> OAK (%) = 100 - (tuhka % + vesi % + ohenteiden ja/tai lisäaineiden ja valmistusaineiden %).

#### 2.4 Muut merkitykselliset ominaisuudet

Kemiallisesti määriteltyjen aineiden osalta: elektrostaattiset ominaisuudet, sulamispiste, kiehumispiste, hajoamislämpötila, tiheys, höyrypaine, liukoisuus veteen ja orgaanisiin liuottimiin, massa- ja absorptiospektri sekä muut merkitykselliset fysikaaliset ominaisuudet.

Mikro-organismien osalta: tunnistamisen ja aiotun käytön kannalta tarkoituksenmukaiset ominaisuudet (esimerkiksi: vegetatiiviren tai itiömuodostusvaihe, CFU-yksikköjen lukumäärä grammaa kohti).

Entsyyttisten valmisteiden osalta: optimaalinen (optimaaliset) pH -arvo(t) ja lämpötila(t) sekä muut tarkoituksenmukaiset ominaisuudet.

#### 2.5 Valmistus- ja puhdistusprosessit ja käytetyt ympäristöt

Valmistuserien koostumuksen vaihtelu valmistuksen eri vaiheissa.

### 3 Lisäaineen fysikaalis-kemialliset, tekniset ja biologiset ominaisuudet

3.1 Pysyvyys (mikro-organismien osalta: biologisen aktiivisuuden menetys, esimerkiksi: elinkelpoisuus) suhteessa ympäristötekijöihin, kuten valoon, lämpötilaan, pH-arvoon, kosteuteen ja happeen. Säilyvyysaika.

3.2 Pysyvyys (mikro-organismien osalta: biologisen aktiivisuuden menetys, esimerkiksi: elinkelpoisuus) esiseosten ja rehujen valmistelun aikana, erityisesti lämmön, paineen ja kosteuden osalta. Mahdolliset hajoamistuotteet.

3.3 Pysyvyys (mikro-organismien osalta: biologisen aktiivisuuden menetys, esimerkiksi: elinkelpoisuus) esiseosten ja rehujen varastoinnin aikana tietyissä olosuhteissa. Säilyvyysaika.

Entsyyttisten valmisteiden osalta: tiedot entsyyttisten valmisteiden entsyymaattisista tai kemiallisista reaktioista valmistusaineiden kanssa syntyneistä odottamattomista tuotteista tai entsyymaattisen valmisteiden hajoamisesta rehun varastoinnin aikana.

3.4 Muut tarkoituksenmukaiset fysikaalis-kemialliset, tekniset ja biologiset ominaisuudet, erityisesti kyky muodostaa homogeenisia seoksia esiseosten ja rehujen kanssa, sekä pölyämisominaisuudet, ja mikro-organismien ja/tai entsyymaattisten valmisteiden osalta hajoamisen tai biologisen aktiivisuuden menetyksen vastaisen resistenssin arviointi ruuansulatuskanavassa tai *in vitro* -simulaatiomallien avulla.

3.5 Fysikaalis-kemiallinen tai biologinen yhteensopimattomuus ja vuorovaikutus (esimerkiksi rehujen, muiden sallittujen lisäaineiden tai lääkeaineiden kanssa).

### 4 Lisäaineen käyttöolosuhteet

4.1 Aiottu käyttö eläinten ruokinnassa (esimerkiksi: eläinlaji tai -ryhmät, rehutyypit, käyttöajat, häviämisaika).

#### 4.2 Käytön esteet

4.3 Ehdotettu annostus esiseoksissa ja rehuissa:

- aktiivisen aineen pitoisuudet ilmaistuina kemiallisesti määriteltyjen aineiden osalta esiseoksissa aktiivisen aineen prosentiosuutena painosta ja rehuissa mg/kg,
- tarkoituksenmukaisina biologisen aktiivisuuden yksikköinä, kuten CFU-yksikkönä tuotegrammaa kohti mikro-organismien osalta tai tarkoituksenmukaisina aktiivisuuden yksikköinä entsyymaattisten valmisteiden osalta.

4.4 Muut aktiivisen aineen tai valmisteiden tunnetut käyttötavat (elintarvikkeissa, lääketieteessä tai eläinlääketieteessä, maataloudessa ja teollisuudessa). Jokaisen käyttötavan osalta on ilmoitettava tuotteen myyntinimitykset, vaikutukset ja vastaikutukset.

4.5 Tarvittaessa toimenpiteet: vaarojen ehkäisemiseksi sekä suojautumiskeinot valmistuksen ja käsittelyn aikana.

### 5 Tarkastusmenetelmät

5.1 Edellä kohdissa 1.3, 2.3, 2.4, 2.5, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 ja 4.3 lueteltujen perusteiden määrittämiseksi käytettävien menetelmien kuvaus.

5.2 Kuvaus rutiinitarkastuksiin tarkoitettuja laadullisista ja määrällisistä analyysimenetelmistä lisäaineen tarkastamiseksi esiseoksista ja rehuista.

5.3 Kuvaus laadullisista ja määrällisistä analyysimenetelmistä eläintuotteissa olevien lisäainejäämien tunnistamiseksi ja mittaamiseksi.

*Huom.:* Näiden menetelmien ja niiden tulosten kuvaukseen on liitettävä tiedot luotettavuustasosta, erityisyydestä, herkkydestä, havaitsemisen raja-arvoista, mahdollisista häiritsevistä tekijöistä, toistettavuudesta ja näytteenottoon käytetystä menetelmästä. Valmisteen ja aktiivisen aineen mallimittojen on oltava saatavilla.

Mikro-organismien osalta on ilmoitettava havaitsemisessa, laskennassa ja tunnistamisessa käytetyt menetelmät ja tarkoituksenmukaiset merkkiaineet.

## III LUKU

## LISÄAIINEEN TEHOA KOSKEVAT TUTKIMUKSET

**1 Rehujen ominaisuuksien parantumista koskevat tutkimukset**

Nämä tutkimukset koskevat teknisiä lisäaineita, kuten hapettumisenestoaineita, säilöntäaineita, sidonta-aineita, emulgoitaiaineita, stabilointiaineita, hyytelöimisaineita jne., joiden tarkoituksena on parantaa tai tasapainottaa esiseosten ja rehujen ominaisuuksia. Tiettyjä mikro-organismeja ja/tai entsyymaattisia valmisteita voidaan myös pitää teknisinä lisäaineina, jos ne parantavat rehujen merkittäviä ominaisuuksia.

Lisäaineen teho olisi osoitettava asianmukaisten perusteiden avulla aiotuissa käyttöolosuhteissa vertaamalla lisäainetta sisältävää rehua rehuun, jossa ei ole lisäainetta, ja mahdollisesti myös vaikutuksiltaan tunnettuja teknisiä lisäaineita sisältäviin rehuihin.

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

**2 Tutkimukset lisäaineiden vaikutuksista eläintuotantoon**

Nämä tutkimukset koskevat eläintuotantoon vaikuttavia kotieläinjalostuksen lisäaineita. Seuraavat tutkimukset, mukaan lukien annos/vaste-suhteen tutkimus, olisi suoritettava kullakin kohdelajilla vertaamalla sitä eläinryhmiin, jotka eivät saa lisäainetta sisältäviä rehuja, ja mahdollisesti vaikutuksiltaan tunnettua teknistä lisäainetta sisältäviä rehuja saaviin eläinryhmiin.

Jos aktiivinen aine on aktiivisten ainesosien seos, kunkin ainesosan esiintyminen on perusteltava.

2.1 Kokkidiostaattien ja muiden lääkeaineiden osalta olisi ensisijaisesti osoitettava erityisvaikutukset ja etenkin ennaltaehkäisevät ominaisuudet (kuten sairastuvuus, ovokystämäärä, havainnot vaurioista). Tiedot vaikutuksista rehun hyötysuhteeseen, eläinten kasvuun sekä kaupan pidettävään määrään ja eläintuotteiden laatuun voidaan liittää mukaan.

2.2 Muiden kotieläinjalostuksen lisäaineiden osalta (tarvittaessa mikro-organismit ja/tai entsyymaattiset valmisteet mukaan lukien) olisi annettava tietoja vaikutuksista rehun hyötysuhteeseen, eläinten kasvuun, tuotokseen, eläintuotteiden ominaisuuksiin ja eläinten hyvinvointiin sekä muihin tekijöihin, joilla on myönteinen vaikutus eläintuotantoon.

**2.3 Koeolosuhteet**

Suoritetut kokeet on kuvattava ja niiden tulokset on esitettävä yksittäin ja yksityiskohtaisesti. Tilastollisesta analyysistä on laadittava kertomus ja ilmoitettava siinä käytetyt menetelmät. Seuraavat tiedot on ilmoitettava:

- 2.3.1 eläinten laji, rotu tai kanta, ikä ja sukupuoli sekä tunnistamismenettely;
- 2.3.2 koe- ja tarkkailuryhmien lukumäärä, eläinten lukumäärä kussakin ryhmässä; kumpaakin sukupuolta olevien eläinten lukumäärän on oltava luotettavaa tilastollista analyysia varten riittävä;
- 2.3.3 tarkoituksenmukaisena pidettävän menetelmän mukaisesti tehtävän tarkastusanalyysin avulla mitattu aktiivisen aineen (ja mahdollisesti vertailtavien aineiden) pitoisuus rehuissa; erien viitenumerot; annoksen laadullinen ja määrällinen ravintoainekoostumus;
- 2.3.4 kunkin kokeen suorituspaikka, eläinten fysiologinen ja terveydellinen tila, ruokinta- ja hoito-olosuhteet yhteisön yleisen käytännön mukaisesti; rehujen tarkastukset ja toimenpiteet, jotka on toteutettu vertailuryhmien saastumisen (ja mikro-organismien osalta erityisesti niiden aiheuttaman rehujen ristikontaminaation) estämiseksi kokeen aikana;
- 2.3.5 kokeiden päivämäärät ja tarkka kesto, suoritettujen tutkimusten päivämäärät ja luonne;
- 2.3.6 hättäväikutukset ja muut kokeiden aikana ilmenneet kielteiset vaikutukset sekä niiden havaitsemisaika.

**3 Eläintuotteiden laatua koskevat tutkimukset**

Lisäainetta sisältävällä rehulla ruokituista eläimistä peräisin olevien tuotteiden aistinvaraisia, ravitsemuksellisia, hygieenisiä ja teknisiä ominaisuuksia koskevat tutkimukset.

## IV LUKU

## LISÄAINEEN KÄYTTÖTURVALLISUUTTA KOSKEVAT TUTKIMUKSET

Tämän luvun tutkimusten tarkoituksena on arvioida:

- lisäaineen turvallista käyttöä kohdelajeilla,
- lisäainetta sellaisenaan tai lisäainetta sisältäviä esiseoksia tai rehuja käsitteleville henkilöille aineen joutumisesta hengitysteihin tai iholle, limakalvoille tai silmiin aiheutuvia vaaroja,
- kuluttajille lisäainejäämiä tai sen aineenvaihduntatuotteita sisältävien elintarvikkeiden nauttimisesta aiheutuvia vaaroja,
- lisäaineesta sellaisenaan tai sen eläinten ulosteiden kautta ympäristöön kulkeutuvista hajoamistuotteista aiheutuvia pilaantumisaaroja ja näiden aineiden pysyvyyttä ympäristössä,
- muille lajeille kuin kohdelajeille mahdollisesti aiheutuvia vaaroja.

Nämä tutkimukset on suoritettava joko kokonaan tai osittain aina lisäaineen laadun ja ehdotettujen käyttöolosuhteiden mukaan.

Yleisenä periaatteena pidetään, etteivät mikro-organismit ja/tai entsyymattiset valmisteet saa olla lähtöisin tai muodostua sellaisista mikro-organismeista, jotka ovat aiotuissa käyttöolosuhteissa kohdelajeille tai ihmiselle patogeenisiä tai toksikogeenisiä.

Mikro-organismien ja/tai entsyymattisten valmisteiden osalta on suoritettava asianmukaisia turvallisuuskokeita, ellei niiden käytön turvallisuudesta esitetä muita hyväksyttäviä asiakirjoja. Mikro-organismien osalta on tehtävä vähintään yksi sietokykytutkimus kohdelajilla.

Syötäväksi kelpaavista eläin- tai kasvituotteista lähtöisin oleville entsyymeille ei periaatteessa ole pakollista suorittaa toksikologisia tutkimuksia; jos taas näitä tuotteita ei yleisesti pidetä tavanomaiseen ruokavalioon kuuluvina, tietyt toksikologiset tutkimukset voivat olla tarpeen.

Jos aktiivinen aine on kemiallisesti määritelty, tiedot sen käyttäytymisestä eri kohdelajien aineenvaihdunnassa samoin kuin kudoksista havaittujen jäämien kertymisestä elimistöön ovat välttämättömiä määrittäessä kuluttajille aiheutuvien vaarojen arvioinniseksi koe-eläimillä tehtävien tutkimusten laajuutta.

Lisäksi tiedot lisäaineperäisten, ulosteissa havaittavien jäämien koostumuksesta sekä fysikaalis-kemiallisista ja biologisista ominaisuuksista ovat välttämättömiä määrittäessä ympäristön pilaantumisen tai ympäristössä pysyvyyden vaaraa selvittävien tutkimusten laajuutta.

## 1 Tutkimukset kohdelajeilla

### 1.1 Lisäaineen toksikologiset tutkimukset

Sietokykykokeet.

Biologisten, toksikologisten, makroskooppisten ja histologisten vaikutusten tutkiminen. Suurimman ehdotetun annostason ja haittavaikutuksia aiheuttavan annostason välisen turvallisuusrajan määrittäminen. 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 Sellaisen kemiallisesti määritellyn aktiivisen aineen osalta, jolla on antimikrobista vaikutusta sinä pitoisuutena, jossa se esiintyy rehussa, lisäaineen antibakteerinen vaikutusalue tutkitaan määrittämällä pienin mikrobien kasvua estävä pitoisuus käyttäen eri lajeihin kuuluvia patogeenisiä ja muita kuin patogeenisiä gram-negatiivisia ja gram-positiivisia bakteereita.

1.2.2 Ristiresistenssin esiintyminen terapeuttisia antibiootteja vastaan tutkitaan määrittämällä pienin mikrobien kasvua estävä pitoisuus *in vitro* tuotetuilla mutanteilla, joilla on kromosomissa resistenssitekijä lisäainetta vastaan. Terapeuttisille antibiooteille resistenttien mikro-organismien osalta on osoitettava tämän resistenssin geneettinen alkuperä.

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

## 1.2.4 Tutkimukset lisäaineen vaikutuksista:

- ruuansulatuskanavan mikrobikasvustoon,
- ruuansulatuskanavan mikrobikantoihin, jos on kyse mikro-organismista tai useiden mikro-organismikantojen sekoituksesta,
- patogeenisten mikro-organismien leviämiseen tai eritykseen, jos kemiallisesti määritellyllä aktiivisella aineella näyttää olevan antimikrobista vaikutusta.

1.2.5 Jos kemiallisesti määritellyllä aktiivisella aineella näyttää olevan antimikrobista vaikutusta, on tehtävä kenttätutkimuksia lisäaineelle resistenttien bakteerien prosenttiosuuden tarkistamiseksi. Nämä tutkimukset on suoritettava riittävän pitkän väliajoin ennen lisäaineen käyttöä, käytön aikana ja sen jälkeen (yhden kuukauden kuluttua).

1.2.6 Jos aktiivinen aine on mikro-organismi, on tutkittava sen mahdollinen resistenssi antibiooteille.

1.2.7 Jos aktiivinen aine (esimerkiksi entsyymaattiset valmisteet) on mikro-organismien tuottamaa, on määritettävä elinkelpoisten tuottavien mikro-organismien pitoisuus.

1.2.8 Jos lisäaine sisältää direktiivin 90/220/ETY 2 artiklan 1 ja 2 kohdassa tarkoitettuja geneettisesti muunnettuja organismeja tai muodostuu niistä, on ilmoitettava seuraavat tiedot:

- jäljennös (jäljennökset) toimivaltaisten viranomaisten antamasta kirjallisesta suostumuksesta (suostumuksista) geneettisesti muunnettujen organismien tarkoitukselliseen levittämiseen ympäristöön tutkimus- ja kehitystarkoituksia varten direktiivin 90/220/ETY 6 artiklan 4 kohdan mukaisesti ja yhteenveto mainitun direktiivin 9 artiklassa tarkoitettua ilmoituksesta, joka on laadittu neuvoston päätöksen 91/596/ETY<sup>(1)</sup> liitteenä olevan mallin mukaisesti,
- täydelliset tekniset asiakirjat, joihin sisältyvät: direktiivin 90/220/ETY liitteessä II vaaditut tiedot laajennettuina tarvittaessa lisäaineen erilaisten käyttöympäristöjen huomioon ottamiseksi; tiedot ja tulokset, jotka on saatu tutkimus- ja kehitystarkoituksia varten tehtyjen levitysten yhteydessä ja jotka koskevat ekosysteemejä, joihin lisäaineen käyttö saattaa vaikuttaa; arvio ihmisten ja eläinten terveydelle ja ympäristölle tuotteesta olevista geneettisesti muunnetuista organismeista aiheutuvista vaaroista sekä tutkimus- ja kehitysvaiheessa saadut tiedot levityksen vaikutuksista ihmisten terveyteen ja ympäristöön,
- lisäaineen markkinoille saattamisen edellytykset, erityisesti käyttöön ja käsittelyyn liittyvät erityisedellytykset ja ehdotus merkinnöistä ja pakkaamisesta, johon on sisällyttävä vähintään direktiivin 90/220/ETY liitteessä III tarkoitettut tiedot.

Jos asiakirjoista vastaava henkilö direktiivin 90/220/ETY B osan mukaisesti ilmoitetun levityksen tai asiallisten ja perusteltujen tieteellisten syiden perusteella arvioi, ettei lisäaineen markkinoille saattamisesta tai käytöstä aiheudu vaaraa ihmisten tai eläinten terveydelle eikä ympäristölle, hän voi ehdottaa yhden tai useamman liitteessä III olevassa B osassa annetuista edellytyksistä jättämistä huomiotta.

Käiskiin saman geneettisesti muunnetun organismin tai organismiyhdistelmän levityksiin, jotka on aiemmin ilmoitettu, joista ollaan parhaillaan ilmoittamassa ja/tai jotka toteuttaa asiakirjoista vastaava henkilö yhteisössä tai sen ulkopuolella, liittyvät tiedot tai tulokset on ilmoitettava.

Myös muiden henkilöiden aiemmin antamista ilmoituksista saatuja tietoja voidaan mainita, jos nämä henkilöt ovat antaneet siihen kirjallisen suostumuksensa.

### 1.3 Aktiivisen aineen käyttäytymistä aineenvaihdunnassa ja sen jäämiä koskevat tutkimukset<sup>(2)</sup>(<sup>3</sup>)(kemiallisesti määriteltujen aktiivisten aineiden osalta)

#### 1.3.1 Aineenvaihdunnan tutkimukset:

- aineenvaihdunnan tasapaino: aktiivisen aineen imeytymisen ja poistumisen nopeus ja laajuus,
- pääasiallisten aineenvaihduntatuotteiden ja aineenvaihduntateiden tunnistaminen,
- aineenvaihduntatuotteiden jakautuminen ja erityy (sapen, virtsan, ulosteiden kautta),
- suoliston ja pötsin mikrobikasvuston, maksa-suolistoverenkierron ja umpisuolen pieneliöstön mahdollinen vaikutus aineenvaihduntaan.

1.3.2 Jäämätutkimukset: jäämien laadullinen ja määrällinen koostumus (aktiivinen aine ja aineenvaihduntatuotteet) erilaisissa eläinperäisissä syötävissä tuotteissa aineenvaihdunnan ollessa tasapainotilassa ja lisäaineen todellisissa käyttöolosuhteissa.

<sup>(1)</sup> EYVL N:o L 322, 23.11.1991, s. 1

<sup>(2)</sup> Edellä kohdissa 1.3.1, 1.3.3 ja 1.3.4 tarkoitettut tutkimukset on tehtävä merkittyjen molekyylien tai muiden tarkoituksenmukaisten menetelmien avulla; käytetyn menetelmän valinta on perusteltava kussakin tapauksessa. Merkinnän olisi oltava aiottuun tarkoitukseen sopiva.

<sup>(3)</sup> Jos aktiivinen aine on käymistuote, nämä tutkimukset on laajennettava koskemaan aktiivisen aineen kaltaisia, valmistuksen yhteydessä syntyviä aineita.



1.3.3 Jäämien kineettinen tutkimus (kun lisäainetta on annettu toistuvasti ehdotetun käyttötavan mukaisesti): aktiivisen aineen ja sen tärkeimpien aineenvaihduntatuotteiden pysyvyys eri elimissä ja kudoksissa lisäainetta sisältävän rehun antamisen päätyttyä.

1.3.4 Tutkimus jäämien kertymisestä eläimestä peräisin oleviin syötäviin tuotteisiin (ks. 3.7 kohta).

1.3.5 Tarkastusmenetelmät: ne laadulliset ja määrälliset määrittämenetelmät, joita käytetään 1.3.1–1.3.4 kohdissa tarkoitetuissa tutkimuksissa ja joissa on tiedot luotettavuustasosta, erityisyydestä ja havaitsemisen raja-arvoista. Jäämien määrittämenetelmien on oltava riittävän herkkiä, jotta jäämät voidaan havaita pitoisuuksina, jotka eivät ole toksikologisesti merkittäviä.

## 2 Eritteissä esiintyviä jäämiä koskevat tutkimukset (kemiallisesti määriteltyjen aineiden osalta)

2.1 Lisäainejäämien laatu ja pitoisuus eritteissä (aktiivinen aine, aineenvaihduntatuotteet).

2.2 Jäämien pysyvyys (puoliintumisaika) ja niiden häviämisen nopeus liemelannassa, 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 (esimerkiksi kasvi- ja eläinjätteen hajoamiseen).

2.6 Vaikutukset maaperän kasveihin (esimerkiksi siementen itävyyteen, kasvien kasvuun, kasvien ravinnonottoon). Nämä tutkimukset on suoritettava valvotuissa olosuhteissa tai kenttäolosuhteissa eri kasvilajeja käyttämällä.

2.7 Lisäaineperäisten tuotteiden (aktiivinen aine, aineenvaihduntatuotteet) liukoisuus ja pysyvyys vedessä.

2.8 Vaikutukset vesieläimiin:

2.8.1 vaikutukset kasvistoon (esim. *Chlorella*);

2.8.2 toksisuus selkärangattomilla (esim. *Daphnia magna*);

2.8.3 toksisuus kaloilla (vähintään kahdella yhteisön alueella tavattavalla luonnonvaraisella kalalajilla).

## 3 Tutkimukset koe-eläimillä

Nämä tutkimukset on suoritettava aktiivisella aineella ja sen tärkeimmillä aineenvaihdunta- tai muilla tuotteilla, jos jälkimmäisiä esiintyy syötävissä eläintuotteissa ja ne kertyvät elimistöön. Koe-eläimet valitaan siten, että lisäaineen sulaminen ja aineenvaihdunta niissä muistuttaa mahdollisimman tarkasti ihmisen tai kohde-eläinlajien vastaavia toimintoja.

Kaikki suoritettavat kokeet on kuvattava yksityiskohtaisesti, ilmoittaen 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 annettava kaikkien kokeissa käytettyjen eläinten osalta sekä ilmoitettava kaikkien patologisten vaurioiden havaitsemisajankohdat. Kaikki tulokset ja niiden tilastollinen arviointi on esitettävä yksityiskohtaisesti.

3.1 *Akuutti toksisuus (ei koske mikro-organismeja)*

3.1.1 Akuutin oraalisin toksisuuden tutkimukset on suoritettava kahdella eläinlajilla, joista toisen olisi mieluiten oltava 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 lukien. Näitä tutkimuksia ei tehdä entsymaattisille valmisteille.

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*

3.2.1 Kemiallisesti määritellyn kemiallisen aineen osalta

Aktiivisten aineiden tai niiden aineenvaihdunta- tai muiden tuotteiden mutageenisten ominaisuuksien tunnistamiseksi on suoritettava valikoitu mutageenisuuden koe yhdistelmä, joka perustuu erilaisiin geneettisiin mekanismeihin. Nämä kokeet on suoritettava sekä ilman aineenvaihduntaa aktivoivaa nisäkkään mikrosomivalmistetta että sen kanssa.

Seuraavaa koe yhdistelmää suositellaan:

- a) geenimutaatiokoe prokaryooteilla;
- b) geenimutaatiokoe soluviljelmissä eukaryooteilla tai *Drosophila melanogasterilla* suoritettava sukupuoleen sidottu resessiiviletaalikoe;
- c) kromosomipoikkeamakoe *in vitro* ja *in vivo*.

Edellä esitetty koe yhdistelmä ei kuitenkaan merkitse sitä, että muut kokeet olisivat soveltumattomia tai että muut kokeet, erityisesti *in vivo* -kokeet, eivät olisi vaihtoehtoisesti hyväksyttävää.

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

3.2.2 Mikro-organismeista peräisin olevien entsyymaattisten valmisteiden osalta on tavallisesti tehtävä seuraavat kokeet:

- a) geenimutaatiokoe bakteereilla;
- b) kromosomipoikkeamakoe (mieluiten *in vitro*).

Toksikologiset kokeet on mahdollisuksien mukaan tehtävä lopullisesta, puhdistetusta käymistuotteesta otetulle erälle ennen tuki-, ohennus- tai muiden aineiden lisäämistä. Nämä kokeet on yleensä suoritettava karvaisinvalisesti tunnettujen järjestöjen laatimien suuntaviivojen<sup>(1)</sup> mukaisesti.

Tiettyjen entsyymaattisten valmisteiden proteinaasiluonteen ja/tai entsyymaattisen toiminnan solutasolla aiheuttamien vaikutusten vuoksi saattaa kuitenkin olla tarpeen muuttaa tavanomaista koemenettelyä erityisesti *in vitro* -kokeiden osalta. Tällaiset poikkeukset hyväksytään, jos ne perustellaan asianmukaisesti.

Koejärjestelmä on kehitetty määrittelemättömien toksisten reaktioiden havaitsemista ja genotoksisten vaikutusten selville saamista varten. Yleisistä määrittelyistä ja tästä koesarjasta saatavien tietojen avulla on mahdollista arvioida sekä tunnettujen erityisten toksien että tuntemattomien toksisten yhdisteiden esiintyminen.

Toksikologista tutkimusta koskevaan kertomukseen on liitettävä todistusasiakirjat, joista ilmenee, että kokeet on suoritettu teknisessä asiakirjassa kuvatun kaupallisen tuotteen perustana olevalla aineella.

### 3.3 Farmakokineettiset tekijät

Kemiallisesti määriteltyjen tuotteiden osalta aineenvaihduntatuotteiden tasapainotilaa ja tunnistamista koskevat tutkimukset on suoritettava asianmukaisesti merkittäviä molekyyliä käyttämällä tai muiden tarkoitukseen soveltuvien menetelmien avulla sen jälkeen, kun aktiivista ainetta on annettu useita kertoja samansuuruisina annoksina sopivan ajan. Aineenvaihduntatutkimusten on sisällettävä myös tutkimukset aktiivisen aineen ja sen tärkeimpien aineenvaihduntatuotteiden farmakokineettisistä ominaisuuksista. Toksikologisiin tutkimuksiin parhaiten soveltuvaa lajia valittaessa on erityisesti kiinnitettävä huomiota aktiivisen aineen aineenvaihdunnan eroihin eri lajeilla.

### 3.4 Subkrooninen toksisuus

Tutkimukset on suoritettava yleensä kahdella eläinlajilla, joista toinen mieluiten rotta. Toinen laji voi tietyissä tapauksissa olla kohde-eläinlaji. Aine annetaan suun kautta ja annos/vaste-suhde on määritettävä. Jyrsijöillä kokeen kesto on oltava vähintään 90 päivää.

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

Näitä kokeita ei sovelleta mikro-organismeihin. Mikro-organismeista peräisin olevien entsyymaattisten valmisteiden osalta yhdellä jyrsijälajilla tehtävä 90 päivää kestävä oraalisen toksisuuden koe saattaa olla riittävä.

### 3.5 Krooninen toksisuus/karsinogeenisuus

Kroonisen toksisuuden tutkimukset on suoritettava yhdellä lajilla (mieluiten rotta), karsinogeenisuuskokeet mieluiten kahdella jyrsijälajilla. Aine annetaan suun kautta useana eri annostasona. Yhdistetty krooninen toksisuus/karsinogeenisuustutkimus, johon liittyy kohtuallisuus, hyväksytään myös. Kokeiden kesto on rotilla vähintään 24 kuukautta ja hiirillä vähintään 18 kuukautta. Jos koetta jatketaan yli vähimmäisajan, se on lopetettava kun muissa ryhmissä kuin suurimman annostason koeryhmässä elossa olevien eläinten prosenttiosuus on laskenut 20 prosenttiin.

Täydellinen kliininen, hematologinen ja virtsan tutkimus on suoritettava sopivin väliajoin koko kokeen ajan. Täydellinen makroskooppinen ja histologinen tutkimus on suoritettava kaikille kokeen aikana kuolleille eläimille sekä kokeen päättyessä elossa oleville eläimille.

Näitä kokeita ei sovelleta mikro-organismeihin eikä entsyymaattisiin valmisteisiin.

<sup>(1)</sup> Kuten:

— elintarvikelisiä aineita koskevan hakemuksen esittäminen ennen sen hyväksymistä, 1989 (ISBN 92-826-0135-B),  
— elintarvikealan tiedekomitean raportti elintarvikkeiden lisäaineiden turvallisuuden arviointia koskevista suuntaviivoista, 1980, 10. raporttisarja (EUR 6892).

### 3.6 Lisääntymiseen liittyvät toksiset vaikutukset (kemiallisesti määriteltyjen aktiivisten aineiden osalta)

Lisääntymiseen liittyvät tutkimukset tehdään mieluiten rotilla. Koe tehdään vähintään kahdelle peräkkäiselle sukupolvelle ja siihen voidaan yhdistää tutkimukset sikiötoksisuudesta, joka sisältää teratogeeniset tutkimukset.

Kaikki hedelmällisyyteen, tiineyteen, synnytykseen, syntymää edeltävään tai syntymän jälkeiseen aikaan liittyvät tekijät on huolellisesti tutkittava ja selostettava. Erityiset teratogeenisuustutkimukset on suoritettava vähintään kahdella sopivalla eläinlajilla.

### 3.7 Aineenvaihduntatuotteiden toksisuus (kemiallisesti määriteltyjen aktiivisten aineiden osalta)

Tiedot jäämätöisyyksien laskemisesta on esitettävä ihmiselle aiheutuvien vaarojen arvioimiseksi.

Ehdotettujen varoajojen laskentaperusteet on esitettävä. Edellä 1.3.4 kohdassa tarkoitettut tutkimukset on suoritettava koe-eläimillä.

### 3.8 Muut tutkimukset

Kaikki muut erityistutkimukset, joista saadaan hyödyllistä lisätietoa kyseisen aineen arvioimiseksi voidaan esittää, esimerkiksi tutkimukset kertymisestä elimistöön, neurotoksisuudesta ja immunotoksisuudesta.

## V LUKU

### ERILLISTUTKIMUKSEN MALLI

#### 1 Lisäaineen tunnistaminen

1.1 Ehdotettu myyntinimitys tai -nimitykset.

1.2 Lisäainetyyppi pääasiallisen vaikutustavan mukaisesti.

1.3 Laadullinen ja määrällinen koostumus (aktiivinen aine, muut ainesosat, epäpuhtaudet).

1.4 Fysikaalinen tila, hiukkaskoko.

1.5 Mahdollinen erityiskäsittely.

*HUOM.:* Jos aktiivinen aine on aktiivisten ainesosien seos, joista kunkin on oltava tarkasti määriteltävissä, pääasialliset ainesosat on kuvattava erikseen ilmoittaen niiden osuus seoksessa.

#### 2 Aktiivista ainetta koskevat vaatimukset

2.1 Kemiallisesti määriteltyjen aineiden osalta: lajinnimitys, kemiallinen nimitys Kansainvälisen puhtaan ja sovelletun kemian liiton (IUPAC) nimikkeistön mukaisesti, muut kansainväliset ryhmänimitykset ja lyhenteet. CAS-numero ("Chemical Abstracts Service"-numero).

Mikro-organismien osalta: nimitys ja luokittelukuvaus kansainvälisten nimikkeistökoodien mukaisesti. Myös muita kansainvälisesti tunnettuja luokittelukäsikirjoja voidaan käyttää<sup>(1)</sup>.

Entsyyttisten valmisteiden osalta: nimitys UIB/UICPAn kuvaamien pääasiallisten entsyyttisten toimintojen mukaisesti. EINECS- ja CAS-numerot.

2.2 Empiirinen ja rakenteellinen kemiallinen kaava sekä molekyylipaino. Käymistuotteiden osalta tärkeimpien ainesosien laadullinen ja määrällinen koostumus.

Mikro-organismien osalta: viljelmän nimitys ja paikka kokoelmassa, johon kanta on tallennettu, jos mahdollista Euroopan yhteisön kokoelmassa, tallennusnumero; geneettinen muuntaminen ja kaikki tunnistamisen kannalta merkittävät ominaisuudet.

Entsyyttisten valmisteiden osalta: biologinen alkuperä (mikrobialkuperän ollessa kyseessä: viljelmän nimitys ja paikka kokoelmassa, johon kanta on tallennettu, jos mahdollista Euroopan yhteisön kokoelmassa, tallennusnumero, geneettinen muuntaminen ja kaikki tunnistamisen kannalta merkittävät ominaisuudet, mukaan lukien geneettiset tiedot), toiminta suhteessa kemiallisesti puhtaisiin substraatteihin; muut fysikaalis-kemialliset ominaisuudet.

#### 2.3 Puhtausaste

Epäpuhtauksien laadullinen ja määrällinen koostumus.

Mikro-organismien osalta: geneettinen pysyvyys ja viljeltyjen kantojen puhtaus.

Entsyyttisten valmisteiden osalta:

<sup>(1)</sup> Kuten "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", "The Yeasts, a taxonomic study", Lodder ja Kreger van Rij; "Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi", Hawksworth, Sutton ja Ainsworth tai "The Genus Aspergillus", Raper ja Fennel.

- puhtaus, [mikrobisaastumisen tason, raskasmetallien, alkuperäisestä organismista peräisin olevien toksiinien (esim: erkiksi mykotoksiinien) puuttumisen mittausta asianmukaisen menetelmän avulla],
- antimikrobisen toiminnan puuttuminen rehussa käytettynä pitoisuutena asianmukaisen menetelmän avulla osoitettuna,
- muun kuin entsyymaattisen ainesosan tai ainesosien koostumus [erityisesti orgaanisten kiintoaineiden kokonaismäärä (OAK)].

#### 2.4 Merkitykselliset ominaisuudet

Kemiallisesti määriteltyjen aineiden osalta: elektrostaattiset ominaisuudet, sulamispiste, kiehumispiste, hajoamislämpötila, tiheys, höyrypaine, liukoisuus veteen ja orgaanisiin liuottimiin, massa- ja absorptiospektri sekä muut merkitykselliset fysikaaliset ominaisuudet.

Mikro-organismien osalta: tunnistamisen ja aiotun käytön kannalta tarkoituksenmukaiset ominaisuudet (esimerkiksi: vegetatiivinen tai itiömuodostusvaihe, CFU-yksikköjen lukumäärä grammaa kohti).

Entsyymaattisten valmisteiden osalta: optimaalinen (optimaaliset) pH -arvo(t) ja lämpötila(t) sekä muut tarkoituksenmukaiset ominaisuudet.

### 3 Lisäaineen fysikaalis-kemialliset, tekniset ja biologiset ominaisuudet

- 3.1 Pysyvyys (mikro-organismien osalta: biologisen aktiivisuuden menetys, esimerkiksi: elinkelpoisuus) suhteessa ympäristötekijöihin, kuten valoon, lämpötilaan, pH-arvoon, kosteuteen ja happeen. Säilyvyysaika.
- 3.2 Pysyvyys (mikro-organismien osalta: biologisen aktiivisuuden menetys, esimerkiksi: elinkelpoisuus) esiseosten ja rehujen valmistelun aikana, erityisesti lämmön, paineen ja kosteuden osalta. Mahdolliset hajoamistuotteet.
- 3.3 Pysyvyys (mikro-organismien osalta: biologisen aktiivisuuden menetys, esimerkiksi: elinkelpoisuus) esiseosten ja rehujen varastoinnin aikana tietyissä olosuhteissa. Säilyvyysaika.
- 3.4 Muut tarkoituksenmukaiset fysikaalis-kemialliset, tekniset ja biologiset ominaisuudet, erityisesti kyky muodostaa homogeenisia seoksia esiseosten ja rehujen kanssa, sekä pölyamisominaisuudet, ja mikro-organismien ja/tai entsyymaattisten valmisteiden osalta hajoamisen tai biologisen aktiivisuuden menetyksen vastainen resistenssin arviointi ruuansulatuskanavassa tai *in vitro*-simulaatiomallien avulla.
- 3.5 Fysikaalis-kemiallinen tai biologinen yhteensopimattomuus ja vuorovaikutus (rehujen, muiden sallittujen lisäaineiden tai lääkeaineiden jne. kanssa).

### 4 Tarkastusmenetelmät

- 4.1 Kuvaus menetelmistä kohdissa 1.3, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3 ja 3.4 lueteltujen perusteiden määrittämiseksi.
- 4.2 Kuvaus eläintuotteissa olevien lisäainejäämien tunnistamiseen ja mittaamiseen tarkoitettuista laadullisista ja määrällisistä analyysimenetelmistä.
- 4.3 Jos edellä tarkoitettuja menetelmiä on julkaistu, riittää kirjallisuusviitteiden ja vastaavien uusintapainosten ilmoittaminen.

### 5 Lisäaineen biologiset ominaisuudet

- 5.1 Tiedot kokkidiostaattien ja muiden lääkeaineiden ennaltaehkäisevistä ominaisuuksista (esimerkiksi sairastuvuus, ovokystamäärä ja havainnot vaurioista).
- 5.2 Muiden kuin 5.1 kohdassa lueteltujen kotieläinjalostuksen lisäaineiden osalta (tarvittaessa mikro-organismit ja/tai entsyymaattiset valmisteet mukaan lukien) tiedot vaikutuksista rehun hyötysuhteeseen, eläinten kasvuun, tuotokseen, eläintuotteiden ominaisuuksiin ja eläinten hyvinvointiin sekä muihin tekijöihin, joilla on myönteinen vaikutus eläintuotantoon.
- 5.3 Vastavaikutukset tai varoitukset, mukaan lukien tiedot biologisesta yhteensopimattomuudesta, perusteluineen.
- 6 Yksityiskohtaiset tiedot niiden mahdollisten jäämien määrästä ja laadusta, jotka esiintyvät eläinperäisissä tuotteissa aiotuissa käyttöolosuhteissa.
- 7 Muut lisäaineen tunnistamisen kannalta merkittävät ominaisuudet.