

II

(Actes dont la publication n'est pas une condition de leur applicabilité)

CONSEIL

DIRECTIVE DU CONSEIL

du 16 février 1987

portant fixation de lignes directrices pour l'évaluation des additifs dans l'alimentation des animaux

(87/153/CEE)

LE CONSEIL DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté économique européenne,

vu la directive 70/524/CEE du Conseil, du 23 novembre 1970, concernant les additifs dans l'alimentation des animaux⁽¹⁾, modifiée en dernier lieu par la directive 86/525/CEE de la Commission⁽²⁾, et notamment son article 9,

vu la proposition de la Commission,

considérant que la directive 70/524/CEE prévoit que l'examen des additifs doit être effectué sur la base d'un dossier transmis officiellement aux États membres et à la Commission ;

considérant que ces dossiers doivent permettre de vérifier que les additifs répondent, pour l'usage proposé, aux principes généraux imposés par la directive pour leur inscription dans ses annexes ;

considérant qu'il est apparu nécessaire de prévoir que ces dossiers soient établis selon les lignes directrices communes définissant les données scientifiques permettant d'identifier et de caractériser les produits concernés, ainsi que les études nécessaires pour évaluer notamment leur efficacité et leur innocuité pour l'homme, l'animal et l'environnement ;

considérant que les lignes directrices constituent avant tout un guide de portée générale ; que, selon la nature de l'additif ou les conditions de son emploi, l'étendue des études nécessaires pour évaluer ses propriétés ou ses effets pourra varier ;

considérant qu'il est indispensable d'appliquer les principes de bonnes pratiques de laboratoire lors de l'élaboration des additifs destinés à l'alimentation animale en vue

de s'assurer que les résultats des essais ne seront pas contestés ; qu'il convient, par ailleurs, de limiter autant que possible les procédures recourant à l'utilisation d'animaux de laboratoire à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques ;

considérant que les lignes directrices ont été établies sur la base des connaissances scientifiques et techniques actuelles et qu'elles pourront être adaptées, le cas échéant, à toute évolution dans ce domaine,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE :

Article premier

Les États membres prescrivent que les dossiers devant accompagner toute demande d'inscription d'un additif ou d'un nouvel usage d'additif dans les annexes de la directive 70/524/CEE sont établis selon les lignes directrices figurant à l'annexe de la présente directive.

Article 2

La présente directive s'applique sans préjudice des dispositions concernant :

- a) les bonnes pratiques de laboratoire relatives à l'acceptation mutuelle des données pour l'évaluation des produits chimiques
- et
- b) la protection des animaux utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques.

Article 3

Les États membres mettent en vigueur les dispositions législatives, réglementaires ou administratives nécessaires pour se conformer à la présente directive le 31 décembre 1987 au plus tard. Ils en informent immédiatement la Commission.

⁽¹⁾ JO n° L 270 du 14. 12. 1970, p. 1.

⁽²⁾ JO n° L 310 du 5. 11. 1986, p. 19.

Article 4

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Bruxelles, le 16 février 1987.

Par le Conseil

Le président

L. TINDEMANS

ANNEXE

LIGNES DIRECTRICES POUR L'ÉVALUATION DES ADDITIFS DESTINÉS À L'ALIMENTATION ANIMALE

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Les présentes lignes directrices constituent un guide destiné à établir les dossiers des substances et préparations susceptibles d'être admises comme additifs dans les aliments des animaux. Ces dossiers doivent permettre d'évaluer les additifs dans l'état actuel des connaissances et de s'assurer qu'ils répondent aux principes fondamentaux imposés pour leur admission et faisant l'objet des dispositions de l'article 7 paragraphe 2 de la directive 70/524/CEE du Conseil, du 23 novembre 1970, concernant les additifs dans l'alimentation des animaux⁽¹⁾.

Toutes les études indiquées dans ces lignes directrices pourront être requises et, si nécessaire, des compléments d'information seront demandés. En règle générale, les études visant à établir l'identité, les conditions d'emploi, les propriétés physico-chimiques, les méthodes de contrôle et l'efficacité de l'additif, ainsi que son métabolisme et ses effets biologiques et toxicologiques chez les espèces cibles devront être fournies. Les études nécessaires à l'évaluation des risques pour la santé humaine et pour l'environnement dépendront essentiellement de la nature de l'additif et des circonstances de son emploi. À cet égard, aucune règle stricte ne prévaudra.

Il ne serait pas toujours justifié de soumettre les additifs destinés exclusivement aux aliments pour animaux familiers à un ensemble d'épreuves de toxicité chronique, de mutagenèse et de cancérogenèse aussi exhaustif que celui exigé pour les additifs destinés à l'alimentation des animaux de rente dont les produits sont consommés par l'homme. Pour déterminer la toxicité chronique, les essais effectués pendant une durée d'un an sur deux espèces cibles ou bien sur une espèce cible et un rat sont généralement suffisants. On peut généralement renoncer à effectuer des essais de mutagenèse et de cancérogenèse, lorsque ni la composition chimique, ni l'expérience acquise lors de l'utilisation ni d'autres facteurs, ne permettent de déceler d'indice d'altération. Dans le cas des animaux familiers, on peut renoncer à l'analyse des résidus.

La connaissance du métabolisme de l'additif chez les animaux de rente, des résidus et de leur biodisponibilité est essentielle. Elle doit permettre de déterminer notamment l'étendue des études toxicologiques à poursuivre sur des animaux de laboratoire en vue d'évaluer les risques éventuels pour le consommateur. Cette évaluation ne pourra en aucun cas être fondée sur des données limitées aux effets directs de l'additif sur des animaux de laboratoire. Celles-ci ne sauraient fournir des informations spécifiques sur les effets réels des résidus résultant du métabolisme chez les espèces auxquelles l'additif est destiné.

Toute demande d'admission d'un additif ou d'un nouvel usage d'un additif sera appuyée par un dossier constitué de rapports détaillés, présentés dans l'ordre et selon la numérotation proposée dans les lignes directrices. L'absence dans le dossier de toute donnée prévue devra être motivée. Les publications citées en référence seront annexées. Les rapports d'expérimentation comprendront le plan et le numéro de référence de l'expérimentation, la description détaillée des essais, les résultats et leur analyse, ainsi que le nom, l'adresse et la signature de la personne responsable de l'étude. Il y a lieu d'annexer aux rapports une déclaration de la personne chargée de veiller aux bonnes pratiques de laboratoire concernant le respect de ces pratiques.

La détermination des propriétés physico-chimiques, toxicologiques et écotoxicologiques sera effectuée à l'aide des méthodes fixées par la directive 84/449/CEE de la Commission, du 25 avril 1984, portant sixième adaptation au progrès technique de la directive 67/548/CEE du Conseil, concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses⁽²⁾ ou à l'aide de méthodes internationalement reconnues dans les milieux scientifiques. L'utilisation d'autres méthodes devra être justifiée.

Chaque dossier contiendra un résumé adéquat. Les dossiers des antibiotiques, des coccidiostatiques et autres substances médicamenteuses, et des facteurs de croissance devront, en outre, être nécessairement assortis d'une monographie conforme au modèle figurant au chapitre V et permettant d'identifier et de caractériser l'additif concerné selon les dispositions de l'article 8 paragraphe 1 de la directive 70/524/CEE.

Dans ces lignes directrices, le terme « additif » se réfère aux substances actives ou aux préparations contenant des substances actives, dans l'état où elles seront incorporées aux prémélanges et aux aliments pour animaux.

Toute modification intervenant dans le procédé de fabrication ou la composition d'un additif, dans son domaine d'application ou ses conditions d'emploi devra être communiquée dans des délais raisonnables à la Commission par l'État membre qui lui a transmis le dossier. Ceci pourrait nécessiter la présentation d'une documentation appropriée à une nouvelle évaluation. Ces exigences seront imposées tout particulièrement dans le cas de produits obtenus à partir de micro-organismes dont le patrimoine génétique a été modifié ou qui se présentent sous forme de mutants naturels.

(1) JO n° L 270 du 14. 12. 1970, p. 1 et

JO n° L 319 du 8. 12. 1984, p. 13.

(2) JO n° L 251 du 19. 9. 1984, p. 1.

SOMMAIRE

- CHAPITRE I^{er} Résumé des données du dossier
- CHAPITRE II Identité, caractéristiques et conditions d'emploi de l'additif.
Méthodes de contrôle
- CHAPITRE III Études concernant l'efficacité de l'additif
1. Études sur l'amélioration de la qualité des aliments pour animaux
 2. Études sur l'influence exercée par les additifs sur la production animale
 3. Étude de la qualité des produits d'origine animale
- CHAPITRE IV Études concernant la sécurité d'emploi de l'additif
1. Études sur les espèces cibles
 - 1.1. Études toxicologiques de l'additif
 - 1.2. Études microbiologiques de l'additif
 - 1.3. Étude du métabolisme et des résidus de la substance active
 2. Études des résidus excrétés
 3. Études sur animaux de laboratoire
- CHAPITRE V Modèle de monographie

CHAPITRE I^{er}

RÉSUMÉ DES DONNÉES DU DOSSIER

CHAPITRE II

IDENTITÉ, CARACTÉRISTIQUES ET CONDITIONS D'EMPLOI DE L'ADDITIF
MÉTHODES DE CONTRÔLE1. **Identité de l'additif**

- 1.1. Dénominations commerciales prévues pour la mise sur le marché.
- 1.2. Type d'additif en fonction de l'effet principal (par exemple, antibiotique, coccidiostatique, histomono-statique, agent conservateur, etc.).
- 1.3. État physique, dimension des particules.
- 1.4. Composition qualitative et quantitative (substance active, autres composants, impuretés).
- 1.5. Procédé de fabrication. Traitements spécifiques éventuels.

2. **Spécifications concernant la substance active**

- 2.1. Dénomination générique, dénomination chimique selon la nomenclature UICPA, autres dénominations génériques et abréviations. Numéro CAS (Chemical Abstracts Service Number).
- 2.2. Formule brute et structurale, poids moléculaire. S'il s'agit de produits de fermentation, composition qualitative et quantitative des principaux éléments.
- 2.3. Degré de pureté. Composition qualitative et quantitative des impuretés.
- 2.4. Propriétés électrostatiques, point de fusion, point d'ébullition, température de décomposition, densité, tension de vapeur, solubilité dans l'eau et les solvants organiques, spectre de masse et d'absorption et toute autre propriété physique pertinente.
- 2.5. Procédés de fabrication et de purification. Variations de composition des lots au cours de la production.

Note

Si la substance est un mélange de composants actifs, chaque composant principal chimiquement identifiable doit être défini séparément et on doit donner les proportions de ce composant dans le mélange.

3. **Propriétés physico-chimiques et technologiques de l'additif**

- 3.1. Stabilité à l'égard des agents atmosphériques (lumière, température, humidité, oxygène, etc.).
- 3.2. Stabilité lors de la préparation des prémélanges et des aliments, notamment stabilité à la chaleur, à la pression et à l'humidité. Produits de décomposition éventuels.
- 3.3. Stabilité au cours de la conservation des prémélanges et des aliments (durée de conservation).
- 3.4. Autres propriétés physico-chimiques et technologiques appropriées, notamment, aptitude à l'homogénéisation dans les prémélanges et les aliments, propriétés en matière de formation de poussières.
- 3.5. Interactions physico-chimiques (incompatibilité avec des aliments, d'autres additifs ou des médicaments, etc.).

4. **Conditions d'emploi de l'additif**

- 4.1. Emplois prévus en alimentation animale (espèces ou catégories d'animaux, catégories d'aliments pour animaux, périodes d'utilisation, temps de retrait, etc.).
- 4.2. Contre-indications.
- 4.3. Concentrations prévues dans les prémélanges et les aliments (teneurs en substance active, en pourcentage pondéral pour les prémélanges ; en mg/kg pour les aliments).
- 4.4. Autres emplois connus de la substance active ou de la préparation (dans les denrées alimentaires, en médecine humaine ou vétérinaire, en agriculture, etc.). Donner pour chaque emploi les dénominations commerciales, les indications et contre-indications du produit.
- 4.5. Si nécessaire, mesures de prévention des risques et moyens de protection lors de la fabrication et de l'utilisation.

5. **Méthodes de contrôle**

- 5.1. Description des méthodes appliquées pour établir les critères énoncés aux points 1.4, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 et 4.3.
- 5.2. Description des méthodes d'analyse qualitative et quantitative destinées au contrôle de routine de l'additif dans les prémélanges et les aliments.

- 5.3. Description des méthodes d'analyse qualitative et quantitative destinées à déceler les résidus d'additifs dans les produits animaux.

Note

La description de ces méthodes sera accompagnée d'indications sur les taux de récupération, la spécificité, la sensibilité, les interférences éventuelles, les limites de détection, la reproductibilité, ainsi que sur la méthode d'échantillonnage utilisée. Des étalons de la préparation et de la substance active devront être disponibles.

CHAPITRE III

ÉTUDES CONCERNANT L'EFFICACITÉ DE L'ADDITIF

1. Études sur l'amélioration de la qualité des aliments pour animaux

Ces études concernent les additifs technologiques tels que les agents anti-oxygène, les agents conservateurs, les agents émulsifiants, gélifiants, etc., qui sont destinés à améliorer la qualité des prémélanges et des aliments pour animaux ou à prolonger leur durée de conservation.

Il y aura lieu de mettre en évidence les effets recherchés de l'additif à l'aide de critères appropriés en comparant les aliments supplémentés dans les conditions d'emploi prévues avec des aliments témoins et, éventuellement, des aliments contenant des additifs technologiques dont l'efficacité est connue.

Pour chaque étude, il faudra préciser la nature exacte des substances actives, des préparations, des prémélanges et des aliments examinés, le numéro de référence des lots, la concentration en substance active dans les prémélanges et les aliments, les conditions d'essai (température, humidité, etc.), les dates et la durée des essais ainsi que les effets défavorables et autres incidents survenus au cours des essais.

2. Études sur l'influence exercée par les additifs sur la production animale

Ces études concernant les additifs zootechniques, tels que les antibiotiques, les facteurs de croissance, les coccidiostatiques et autres substances médicamenteuses, etc., qui exercent des effets sur les productions animales. Les études indiquées ci-après se feront sur chaque espèce cible en comparaison avec des groupes d'animaux témoins et, éventuellement, des groupes d'animaux recevant des aliments contenant des additifs dont l'efficacité est connue.

- 2.1. Pour les antibiotiques et les facteurs de croissance, étude des effets sur l'efficacité alimentaire, sur la croissance de l'animal ainsi que sur le rendement des productions animales.

Détermination des relations doses/effets.

- 2.2. Pour les coccidiostatiques et autres substances médicamenteuses, il conviendrait de s'attacher en premier lieu à mettre en évidence l'effet spécifique, notamment le pouvoir prophylactique (par exemple, morbidité, nombre d'oocystes, évaluation des lésions, etc.). Il conviendrait de joindre des informations concernant les effets sur l'utilisation des aliments, la croissance des animaux ainsi que sur la quantité et la qualité marchande des produits animaux.

2.3. Conditions expérimentales :

Donner une description détaillée des essais effectués individuellement pour chaque essai. Le procès-verbal d'essai doit permettre une analyse statistique. Préciser les données suivantes :

- 2.3.1. L'espèce, la race, l'âge et le sexe des animaux, leur mode d'identification.
- 2.3.2. Le nombre d'essais et des groupes témoins, le nombre d'animaux de chaque groupe. Aux fins d'analyses statistiques, un nombre suffisant d'animaux des deux sexes doit être choisi.
- 2.3.3. La concentration de la substance active dans les aliments révélée par une analyse de contrôle. Le numéro de référence des lots utilisés. La composition nutritionnelle qualitative et quantitative de la ration journalière.
- 2.3.4. Le lieu des essais, l'état physiologiques et sanitaire des animaux ainsi que les différentes conditions d'alimentation et d'élevage selon les pratiques en usage dans la Communauté.
- 2.3.5. Les dates et la durée exacte des essais, les dates des examens pratiqués.
- 2.3.6. Les effets défavorables et autres incidents survenus au cours des essais et le moment de leur apparition.

3. Étude de la qualité des produits d'origine animale

Étude des qualités organoleptiques, nutritionnelles, hygiéniques et technologiques des produits comestibles provenant d'animaux ayant reçu une alimentation contenant l'additif.

CHAPITRE IV

ÉTUDES CONCERNANT LA SÉCURITÉ D'EMPLOI DE L'ADDITIF

Les études indiquées dans ce chapitre sont destinées à évaluer :

- la sécurité d'emploi de l'additif pour les espèces cibles,
- les risques pour le consommateur pouvant résulter de la consommation de denrées alimentaires contenant des résidus de l'additif,
- les risques par inhalation et contact cutané pour les personnes appelées à manipuler l'additif en l'état ou incorporé aux prémélanges ou aux aliments,
- les risques de contamination de l'environnement par les produits provenant de l'additif, excrétés par les animaux.

Ces études seront imposées dans leur totalité ou en partie selon la nature de l'additif et les conditions d'emploi proposées. La connaissance du métabolisme de la substance active chez les différentes espèces cibles, ainsi que de la composition et de la biodisponibilité de ses résidus tissulaires sera déterminante pour définir l'étendue des études à entreprendre sur animaux de laboratoire pour évaluer les risques pour le consommateur. Par ailleurs, la connaissance de la composition et des propriétés physico-chimiques et biologiques des produits excrétés provenant de l'additif sera indispensable pour définir les limites des études destinées à évaluer les risques de contamination de l'environnement.

1. Études sur les espèces cibles

1.1. Études toxicologiques de l'additif

Essais de tolérance. Étude des effets biologiques, toxicologiques, macroscopiques et histologiques. Détermination du coefficient de sécurité (marge entre la dose maximale proposée et de la dose entraînant des effets défavorables). La valeur de ce coefficient pourra être minimale ou approximative s'il est prouvé que la dose entraînant des effets défavorables excède largement la dose maximale d'emploi proposée.

1.2. Études microbiologiques de l'additif

- 1.2.1. Étude du spectre d'activité microbiologique de l'additif par évaluation de la concentration minimale d'inhibition sur les souches bactériennes pathogènes et non pathogènes Gram négatives et Gram positives.
 - 1.2.2. Étude de la résistance croisée aux antibiotiques thérapeutiques par évaluation de la concentration minimale d'inhibition sur des mutants produits *in vitro* présentant une résistance chromosomique à l'additif.
 - 1.2.3. Études visant à déterminer si l'additif peut sélectionner des facteurs de résistance. Ces études doivent être effectuées dans des conditions proches de la réalité sur les espèces animales auxquelles l'additif est destiné en premier lieu. Il convient d'examiner ensuite si les facteurs R qui auront été trouvés le cas échéant sont porteurs d'une résistance mutiple et s'ils sont transférables.
 - 1.2.4. Études visant à évaluer l'effet de l'additif sur la flore intestinale normale, la colonisation du tube digestif et l'excrétion de micro-organismes pathogènes.
 - 1.2.5. Études visant à évaluer la proportion de bactéries résistantes à l'additif dans le champ d'observation. Ces études doivent être effectuées à des intervalles assez longs avant et pendant l'utilisation de l'additif (surveillance).
- #### 1.3. Études du métabolisme et des résidus de la substance active ⁽¹⁾ ⁽²⁾
- 1.3.1. Étude du bilan métabolique : taux d'excrétion urinaire, fécale et, éventuellement, respiratoire de la substance active ; taux résiduel dans l'organisme.
 - 1.3.2. Étude du métabolisme : absorption, distribution, biotransformation, élimination. Éventuellement, données relatives à l'excrétion biliaire, à l'existence d'un cycle entérohépatique, à l'influence de la caecotrophie.
 - 1.3.3. Étude analytique des résidus : composition qualitative et quantitative des résidus (substance active, métabolites) dans les différents organes et tissus de l'animal ainsi que dans les produits comestibles provenant de l'animal, après équilibre métabolique et dans les conditions pratiques d'emploi de l'additif.

⁽¹⁾ Les études visées aux points 1.3.1, 1.3.2, 1.3.4 et 1.3.5 seront faites, de préférence, à l'aide de molécules marquées. Le marquage devra être approprié à l'objectif recherché.

⁽²⁾ Lorsqu'il s'agit de produits de fermentation, ces études devraient s'étendre aux substances apparentées à la substance active, issues du procédé de production.

- 1.3.4. Étude pharmacocinétique des résidus (après ingestion répétée de l'additif selon l'emploi proposé) : persistance de la substance active et des principaux métabolites dans les différents organes et tissus après retrait de l'aliment supplémenté.
- 1.3.5. Étude de la biodisponibilité des résidus tissulaires et des résidus présents dans les productions des espèces cibles (voir le point 3.8 ci-après).
- 1.3.6. Méthodes de contrôle : description des méthodes de détermination qualitative et quantitative utilisées dans les études requises aux points 1.3.1 à 1.3.5 avec indication des taux de récupération, de la spécificité et des limites de détection. Les méthodes d'analyse des résidus doivent être assez sensibles pour permettre de déceler les résidus à des niveaux toxicologiquement négligeables.

2. Études des résidus excrétés

- 2.1. Nature et concentration des résidus provenant de l'additif (substance active, métabolites) dans les excréments.
- 2.2. Persistance (durée de demi-vie) et cinétique d'élimination de ces résidus dans les lisiers, les fumiers et les litières.
- 2.3. Effets sur la méthanogenèse.
- 2.4. Dégradation, persistance (durée de demi-vie) et cinétique d'élimination dans les sols (divers types de sols).
- 2.5. Effets sur la faune du sol et les processus microbiens de transformation (décomposition des résidus végétaux et animaux, transformations de l'azote, etc.).
- 2.6. Effets sur les végétaux terrestres (germination des semences, croissance des plantes, absorption par les plantes, etc.). Effectuer ces études sous abri et en plein champ sur différentes espèces végétales.
- 2.7. Solubilité et stabilité dans l'eau des produits dérivés de l'additif (substance active, métabolites).
- 2.8. Effets sur la vie aquatique :
 - 2.8.1. Effets sur la flore (par exemple *Chlorella*)
 - 2.8.2. Toxicité sur invertébrés (par exemple *Daphnia magna*)
 - 2.8.3. Toxicité sur poissons (deux espèces au moins choisies parmi les espèces sauvages vivant sur le territoire de la Communauté).

3. Études sur animaux de laboratoire

Ces études doivent porter sur la substance active et sur ses principaux métabolites si ces derniers sont présents dans les produits animaux comestibles et biodisponibles. Dans la mesure du possible, on s'efforcera de choisir des animaux de laboratoire susceptibles de métaboliser l'additif de façon similaire à l'homme.

Une description complète des essais effectués doit être donnée en précisant l'espèce et la souche des animaux utilisés, la taille et le nombre de groupes d'essais et de groupes témoins, les doses administrées, la composition du régime alimentaire et les résultats d'analyses des aliments, les conditions d'élevage, la durée exacte des essais, les dates des différents examens effectués et des mortalités. Les phénomènes pathologiques macroscopiques et histopathologiques observés chez les animaux d'essais ainsi que l'indication du moment de l'apparition de toutes les lésions pathologiques doivent faire l'objet de rapports exhaustifs. Tous les résultats et leur évaluation statistique doivent être présentés en détail.

3.1. Toxicité aiguë

- 3.1.1. Des études de toxicité aiguë par voie orale doivent être effectuées sur deux espèces animales dont l'une sera, de préférence, le rat. La dose maximale ne devrait pas dépasser 2 000 mg/kg de poids corporel. Des observations détaillées devront être données sur les effets biologiques observés au cours d'une période de deux semaines au moins après l'ingestion.
- 3.1.2. Des études de toxicité aiguë par inhalation, du pouvoir irritant pour la peau et, si nécessaire, pour les muqueuses ainsi que du potentiel allergène doivent être effectuées à l'aide d'essais appropriés à l'évaluation des risques éventuels associés à la manipulation de l'additif.

3.2. Mutagénèse

Afin d'identifier les substances actives ou leurs métabolites possédant des propriétés mutagènes, on doit effectuer une combinaison sélective d'essais de mutagénèse reposant sur différents mécanismes génétiques. Ces essais doivent être pratiqués pour l'activation métabolique en présence et en l'absence d'une préparation de microsomes de mammifères.

L'ensemble des essais indiqués ci-après est recommandé :

- a) un essai de mutations géniques en systèmes procaryote ;
- b) un essai de mutations géniques en système eucaryote *in vitro* ou un essai léthal récessif associé au sexe sur *Drosophila melanogaster* ;
- c) un essai de lésions chromosomiques *in vitro* et *in vivo*.

Toutefois, cette proposition de combinaison d'essais n'implique pas que ces essais sont les seuls à convenir ou que d'autres essais, notamment des essais *in vivo*, ne seraient pas acceptables comme solutions de rechange.

Dans tous les cas, il y a lieu d'indiquer les raisons du choix effectué. Les essais doivent être réalisés conformément à des procédures établies et validées. D'après les résultats obtenus et compte tenu du profil toxicologique général de la substance ainsi que de l'usage auquel elle est destinée, des examens complémentaires peuvent être indiqués.

3.3. *Aspects métaboliques et pharmacocinétiques*

Des études du bilan ainsi que l'identification des métabolites doivent être effectuées à l'aide de molécules marquées de façon appropriée et après administration de doses uniques et multiples de la substance active pendant une période convenable. Les études du métabolisme doivent comprendre celles de la pharmacocinétique de la substance active et des principaux métabolites. On tiendra compte des différences de métabolisme de la substance active existant entre les différentes espèces pour le choix de l'espèce la plus utile pour les recherches toxicologiques ultérieures.

3.4. *Toxicité subchronique*

En général, ces études doivent être effectuées sur deux espèces animales dont l'une sera, de préférence, le rat. La seconde espèce pourra être, dans certains cas, une espèce cible.

La substance doit être administrée par voie orale et une relation dose-effets doit être établie. La durée de l'essai chez les rongeurs doit être d'au moins 90 jours.

Dans certains cas, des études d'une durée de six mois à deux ans sur le chien ou sur d'autres animaux non rongeurs seront souhaitables en vue d'établir la variation de sensibilité de différentes espèces animales à la substance concernée.

3.5. *Toxicité chronique/cancérogène*

Les études de toxicité chronique doivent être effectuées sur une espèce de rongeurs (de préférence le rat) ; les études de cancérogénèse, de préférence sur deux espèces de rongeurs. La substance doit être administrée par voie orale à différentes doses. On peut également effectuer une étude combinée de toxicité chronique/cancérogénicité avec exposition *in utero*. Les essais doivent se poursuivre durant au moins deux ans chez le rat et 80 semaines chez la souris. Si l'expérimentation s'étend au-delà de la période minimale prévue, elle s'achève lorsque le nombre d'animaux survivants de chaque groupe, à l'exception de celui ayant reçu la plus forte dose, est réduit à 20 %. Des examens de chimie clinique, hématologiques et urinaires complets doivent être effectués à des intervalles appropriés pendant toute la durée de l'expérimentation. Des examens macroscopiques et histologiques complets doivent être effectués chez tous les animaux morts durant l'essai et chez les animaux survivants à l'issue de l'essai.

3.6. *Effets sur la reproduction*

Les études sur la reproduction doivent être effectuées de préférence sur le rat. Elles doivent s'étendre sur au moins deux générations en ligne directe et peuvent être combinées avec des études d'embryotoxicité, incluant la tératogénèse. Tous les paramètres concernant la fertilité, la gestation, la parturition et la situation péri- et postnatale doivent être soigneusement étudiés et rapportés. Les études spécifiques de tératogénèse doivent être effectuées sur au moins deux espèces animales appropriées.

3.7. *Biodisponibilité*

La connaissance du devenir des résidus de la substance active marquée, présente dans les tissus et les productions des espèces cibles, nécessite une étude de biodisponibilité comprenant au moins une étude du bilan des résidus après ingestion par des animaux de laboratoire.

3.8. *Toxicologie des métabolites*

Des documents relatifs au calcul de la concentration des résidus doivent être présentés en vue de l'évaluation des risques pour l'homme.

Les bases de calcul des temps d'attente proposés doivent être présentées.

3.9. *Autres études appropriées*

On pourra présenter toute autre étude susceptible d'apporter des compléments d'information utiles à l'évaluation de la substance concernée, par exemple des études sur la toxicité de relais.

CHAPITRE V

MODÈLE DE MONOGRAPHIE

1. **Identité de l'additif**
 - 1.1. Type d'additif en fonction de l'effet principal (antibiotique, coccidiostatique, histomonostatique, facteur de croissance, etc.).
 - 1.2. État physique, dimension des particules.
 - 1.3. Composition qualitative et quantitative (substance active, autres composants, impuretés).
 - 1.4. Traitements spécifiques éventuels.
 2. **Spécifications concernant la substance active**
 - 2.1. Dénomination générique, dénomination chimique selon la nomenclature UICPA, autres dénominations génériques et abréviations. Numéro CAS (Chemical Abstract Service Number).
 - 2.2. Formule brute et structurale, poids moléculaire. S'il s'agit de produits de fermentation, composition qualitative et quantitative des principaux éléments.
 - 2.3. Degré de pureté. Composition qualitative et quantitative des impuretés.
 - 2.4. Propriétés physiques pertinentes, notamment propriétés électrostatiques, point de fusion, point d'ébullition, température de décomposition, densité, tension de vapeur, solubilité dans l'eau et les solvants organiques, spectre d'absorption, etc.

Note

Si la substance est un mélange de composants actifs, chaque composant principal chimiquement identifiable doit être défini séparément et on doit donner les proportions de ce composant dans le mélange.
 3. **Propriétés physico-chimiques et technologiques de l'additif**
 - 3.1. Stabilité à l'égard des agents atmosphériques (lumière, température, humidité, oxygène, etc.).
 - 3.2. Stabilité lors de la préparation des prémélanges et des aliments, notamment stabilité à la chaleur, à la pression et à l'humidité. Produits de décomposition éventuels.
 - 3.3. Stabilité au cours de la conservation des prémélanges et des aliments (durée de conservation).
 - 3.4. Autres propriétés physico-chimiques et technologiques pertinentes, notamment aptitude à l'homogénéisation dans les prémélanges et les aliments, propriétés en matière de formation de poussières.
 - 3.5. Interactions physico-chimiques (incompatibilité avec des aliments, d'autres additifs ou des médicaments, etc.).
 4. **Méthodes de contrôle**
 - 4.1. Description des méthodes appliquées pour déterminer les critères énoncés aux points 1.3, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3 et 3.4 du présent chapitre.
 - 4.2. Description des méthodes d'analyse qualitative et quantitative destinées à déceler les résidus d'additif dans les produits animaux.
 - 4.3. Si lesdites méthodes ont été publiées, il peut suffire d'indiquer des références bibliographiques.
 5. **Propriétés biologiques de l'additif**
 - 5.1. Pour les coccidiostatiques et autres substances médicamenteuses, indication des effets prophylactiques (morbidity, nombre d'oocystes, etc.).
 - 5.2. Pour les antibiotiques et les facteurs de croissance, indication des effets sur le rendement des aliments, la croissance des animaux et la qualité des produits animaux.
 - 5.3. Contre-indications ou avertissements éventuels, y compris les incompatibilités biologiques, avec leur justification.
 6. **Indication qualitative et quantitative des résidus éventuels dans les produits d'origine animale dans les conditions d'utilisation envisagées**
 7. **Autres caractéristiques pertinentes pour l'identification de l'additif**
-