

## II

(Actos cuja publicação não é uma condição da sua aplicabilidade)

## CONSELHO

## DIRECTIVA DO CONSELHO

de 16 de Fevereiro de 1987

que fixa linhas directrizes para a avaliação dos aditivos na alimentação para animais

(87/153/CEE)

O CONSELHO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS,

Tendo em conta o Tratado que institui a Comunidade Económica Europeia,

Tendo em conta a Directiva 70/524/CEE do Conselho, de 23 de Novembro de 1970, relativa aos aditivos na alimentação para animais <sup>(1)</sup>, com a última redacção que lhe foi dada pela Directiva 86/525/CEE da Comissão <sup>(2)</sup>, e, nomeadamente, o seu artigo 9º,

Tendo em conta a proposta da Comissão,

Considerando que a Directiva 70/524/CEE prevê que o exame dos aditivos deve ser efectuado com base num processo transmitido oficialmente aos Estados-membros e à Comissão;

Considerando que esses processos devem permitir verificar que os aditivos correspondem, para a utilização proposta, aos princípios gerais impostos pela directiva para a sua inclusão nos anexos da mesma;

Considerando que se revelou necessário prever que esses processos sejam emitidos segundo linhas directrizes comuns que definam os dados científicos que permitem identificar e caracterizar os produtos em causa, bem como os estudos necessários para avaliar, nomeadamente, a sua eficácia e a sua inocuidade para o homem, os animais e o ambiente;

Considerando que as linhas directrizes constituem, antes de tudo, um guia de carácter geral; que, segundo a natureza do aditivo ou as condições da sua utilização, a extensão dos estudos necessários para avaliar as suas propriedades ou efeitos pode variar;

Considerando que é necessário aplicar os princípios da boa prática de laboratório aquando da elaboração dos aditivos destinados à alimentação animal, com vista a

garantir que os resultados dos ensaios experimentais não sejam postos em causa; que, além disso, é aconselhável limitar tanto quanto possível os processos que recorrem à utilização de animais de laboratório para efeitos experimentais ou para outros fins científicos;

Considerando que as linhas directrizes foram estabelecidas com base nos conhecimentos científicos e técnicos actuais e que podem ser adaptadas, se for caso disso, a qualquer progresso nesse domínio,

ADOPTOU A PRESENTE DIRECTIVA:

*Artigo 1º*

Os Estados-membros determinarão que os processos que devem acompanhar qualquer pedido de inclusão de um aditivo ou de uma nova utilização de um aditivo nos anexos da Directiva 70/524/CEE sejam feitos segundo as linhas directrizes constantes do anexo da presente directiva.

*Artigo 2º*

A presente directiva aplicar-se-á sem prejuízo das disposições relativas:

- a) À boa prática de laboratório para efeitos da aceitação mútua dos dados para a avaliação de produtos químicos e,
- b) À protecção dos animais utilizados para efeitos experimentais ou para outros fins científicos.

*Artigo 3º*

Os Estados-membros porão em vigor as disposições legislativas, regulamentares e administrativas necessárias para darem cumprimento à presente directiva o mais tardar em 31 de Dezembro de 1987. Desse facto informarão imediatamente a Comissão.

<sup>(1)</sup> JO nº L 270 de 14. 12. 1970, p. 1.

<sup>(2)</sup> JO nº L 310 de 5. 11. 1986, p. 19.

*Artigo 4º*

Os Estados-membros são destinatários da presente directiva.

Feito em Bruxelas, em 16 de Fevereiro de 1987.

*Pelo Conselho*

*O Presidente*

L. TINDEMANS

---

## ANEXO

## LINHAS DIRECTRIZES PARA A AVALIAÇÃO DOS ADITIVOS DESTINADOS À ALIMENTAÇÃO ANIMAL

## CONSIDERAÇÕES GERAIS

As presentes linhas directrizes constituem um guia destinado à organização de processos sobre as substâncias e preparados susceptíveis de serem admitidos como aditivos nos alimentos para animais. Esses processos devem permitir avaliar os aditivos de acordo com o estado actual dos conhecimentos e assegurar que obedecem aos princípios fundamentais impostos para a sua autorização, os quais são objecto do disposto no nº 2 do artigo 7º da Directiva 70/524/CEE do Conselho, de 23 de Novembro de 1970, relativa aos aditivos na alimentação para animais<sup>(1)</sup>.

Podem ser exigidos todos os estudos indicados nestas linhas directrizes e, se necessário, serão pedidas informações complementares. Regra geral, devem ser fornecidos os estudos destinados a estabelecer a identidade, as condições de utilização, as propriedades físico-químicas, os métodos de controlo e a eficácia do aditivo, bem como o seu metabolismo e os seus efeitos biológicos e toxicológicos nas espécies-alvo. Os estudos necessárias para a avaliação dos riscos para a saúde humana e para o ambiente dependerão essencialmente da natureza do aditivo e das circunstâncias do seu emprego. A este respeito, não prevalecerá nenhuma regra restrita.

Nem sempre seria justificável submeter os aditivos exclusivamente destinados à alimentação de animais de estimação a investigações sobre a toxicidade crónica e os efeitos de mutação genética e cancerígenos tão exaustivas como as aplicadas aos aditivos destinados a alimentos para animais de rendimento cujos produtos se destinam ao consumo humano. Para a determinação da toxicidade crónica é de modo geral suficiente proceder a estudos com a duração de um ano sobre as duas espécies-alvo ou uma espécie-alvo e ratas. Pode dispensar-se a investigação dos efeitos cancerígenos ou de mutação genética, quando nada indicar que possam surgir alterações resultantes da composição química ou não houver conhecimento de casos empiricamente observados na aplicação ou outras indicações nesse sentido. Pode igualmente dispensar-se a determinação de resíduos nos animais de estimação.

O conhecimento do metabolismo do aditivo nos animais de rendimento, dos resíduos e da sua biodisponibilidade é essencial. Esse conhecimento deve permitir determinar, nomeadamente, a extensão dos estudos toxicológicos a levar a cabo em animais de laboratório, com vista à avaliação dos eventuais riscos para o consumidor. Essa avaliação não pode em nenhum caso basear-se em dados limitados aos efeitos directos do aditivo em animais de laboratório. Esses dados não podem fornecer informações específicas sobre os efeitos reais dos resíduos resultantes do metabolismo nas espécies a que o aditivo se destina.

Qualquer pedido de autorização de um aditivo ou de uma nova utilização de um aditivo deve ser acompanhado de um constituído por relatórios pormenorizados apresentados pela ordem e segundo a numeração proposta nas linhas directrizes. A ausência no processo de qualquer dado previsto deve ser justificada. As publicações citadas como referência serão apenas ao processo. Os relatórios das experiências incluirão o plano e o número de referência da experiência, a descrição pormenorizada dos ensaios, os resultados e a sua análise bem como o nome, o endereço e a assinatura da pessoa responsável pelo estudo. O relatório deve ser acompanhado por uma declaração sobre a observância das boas práticas de laboratório assinada pelo respectivo responsável.

A determinação das propriedades físico-químicas, toxicológicas e ecotoxicológicas será efectuada com o auxílio dos métodos fixados pela Directiva 84/449/CEE da Comissão, de 25 de Abril de 1984, que pela sexta vez adapta ao progresso técnico a Directiva 67/548/CEE do Conselho relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas respeitantes à classificação, embalagem e rotulagem das substâncias perigosas<sup>(2)</sup>, ou com o auxílio de métodos internacionalmente reconhecidos nos meios científicos. A utilização de outros métodos deve ser justificada.

Cada processo incluirá um resumo adequado. Os processos relativos a antibióticos, coccidiostáticos e outras substâncias medicamentosas, bem como aos factores de crescimento devem, além disso, ser necessariamente acompanhados de uma monografia conforme ao modelo que consta do capítulo V e que permita identificar e caracterizar o aditivo em causa nos termos do disposto no nº 1 do artigo 8º da Directiva 70/524/CEE relativa aos aditivos na alimentação para animais.

Nestas linhas directrizes, o termo « aditivo » refere-se às substâncias activas ou aos preparados que contêm substâncias activas, no estado em que serão incorporadas nas pré-misturas e nos alimentos para animais.

Qualquer modificação que intervenha no processo de fabrico ou na composição de um aditivo, no seu campo de aplicação ou nas suas condições de utilização deve ser oportunamente notificada à Comissão pelo Estado-membro que lhe enviou o processo. Pode exigir-se a apresentação de documentação adequada para uma nova avaliação. Estas exigências serão impostas, muito especialmente, nos casos de produtos obtidos a partir de microrganismos cujo património genético tenha sido alterado, ou de mutantes naturais.

<sup>(1)</sup> JO nº L 270 de 14. 12. 1970, p. 1 e  
JO nº L 319 de 8. 12. 1984, p. 13.

<sup>(2)</sup> JO nº L 251 de 19. 9. 1984, p. 1.

## SUMÁRIO

- CAPÍTULO I: Resumo dos dados do processo.
- CAPÍTULO II: Identidade, características e condições de utilização do aditivo.  
Métodos de controlo.
- CAPÍTULO III: Estudos relativos à eficácia do aditivo
1. Estudos sobre o melhoramento da qualidade dos alimentos para animais;
  2. Estudos sobre a influência exercida pelos aditivos nas produções de origem animal;
  3. Estudos sobre a qualidade dos produtos de origem animal.
- CAPÍTULO IV: Estudos relativos à segurança de utilização do aditivo
1. Estudos sobre as espécies-alvo ;
    - 1.1. Estudos toxicológicos do aditivo ;
    - 1.2. Estudos microbiológicos do aditivo ;
    - 1.3. Estudo do metabolismo e dos resíduos da substância activa.
  2. Estudos dos resíduos nas excreções.
  3. Estudos em animais de laboratório.
- CAPÍTULO V: Modelo de monografia.

## CAPÍTULO I

## RESUMO DOS DADOS DO PROCESSO

## CAPÍTULO II

IDENTIDADE, CARACTERÍSTICAS E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO ADITIVO  
MÉTODOS DE CONTROLO**1. Identidade do aditivo**

- 1.1. Designações comerciais previstas para a comercialização.
- 1.2. Tipo de aditivo segundo o efeito principal (ex., antibiótico, coccidiostático, histomonostático, conservante, etc.).
- 1.3. Estado físico, dimensão das partículas.
- 1.4. Composição qualitativa e quantitativa (substância activa, outros componentes, impurezas).
- 1.5. Processo de fabrico. Tratamentos específicos eventuais.

**2. Especificações relativas à substância activa**

- 2.1. Designação genérica, designação química segundo a nomenclatura VICPA, outras designações genéricas e abreviaturas. Número CAS (Chemical Abstracts Service Number).
- 2.2. Fórmula bruta e estrutural, peso molecular. Se se tratar de produtos de fermentação, composição qualitativa e quantitativa dos principais elementos.
- 2.3. Grau de pureza. Composição qualitativa e quantitativa das impurezas.
- 2.4. Propriedades electrostáticas, ponto de fusão, ponto de ebulição, temperatura de decomposição, densidade, tensão de vapor, solubilidade na água e nos solventes orgânicos, espectro de massa e de absorção e qualquer outra propriedade física pertinente.
- 2.5. Processos de fabrico e de purificação. Variações de composição dos lotes durante a produção.

*NB:* Se for uma mistura de componentes activos, descrever separadamente cada composto principal quimicamente definível e dar as suas proporções na mistura.

**3. Propriedades físico-químicas e tecnológicas do aditivo**

- 3.1. Estabilidade em relação aos agentes atmosféricos (luz, temperatura, humidade, oxigénio, etc.).
- 3.2. Estabilidade aquando da preparação das pré-misturas e dos alimentos, nomeadamente, em relação ao calor, à pressão e à humidade. Eventuais produtos de decomposição.
- 3.3. Estabilidade durante a conservação das pré-misturas e dos alimentos (prazo de conservação).
- 3.4. Outras propriedades físico-químicas e tecnológicas relevantes, nomeadamente, aptidão para a homogeneização nas pré-misturas e nos alimentos, propriedades relativas à formação de poeiras.
- 3.5. Interacções físico-químicas (incompatibilidade com alimentos, outros aditivos ou medicamentos).

**4. Condições de utilização do aditivo**

- 4.1. Utilizações previstas na alimentação animal (espécies ou tipos de animais, tipo de alimento, períodos de utilização, período de retirada, etc.).
- 4.2. Contra-indicações.
- 4.3. Concentrações previstas nas pré-misturas e nos alimentos (teores de substância activa, em percentagem ponderal para as pré-misturas e em mg/kg para os alimentos).
- 4.4. Outras utilizações conhecidas da substância activa ou do preparado (nos géneros alimentícios, na medicina humana ou veterinária, na agricultura, etc.). Fornecer para cada utilização as designações comerciais, as indicações e as contra-indicações do produto.
- 4.5. Caso necessário, medidas de prevenção dos riscos e meios de protecção na produção e na utilização.

**5. Métodos de controlo**

- 4.1. Descrição dos métodos aplicados para determinar os critérios enunciados nos pontos 1.4, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 e 4.3.
- 5.2. Descrição dos métodos de análise qualitativa e quantitativa destinados ao controlo de rotina do aditivo nas pré-misturas e nos alimentos.

- 5.3. Descrição dos métodos de análise qualitativa e quantitativa destinados à verificação dos resíduos de aditivos nos produtos de origem animal.

*NB:* A descrição destes métodos deve ser acompanhada de indicações sobre as taxas de recuperação, a especificidade, a sensibilidade, as eventuais interferências, os limites de detecção, a possibilidade de repetição, bem como sobre o método de colheita de amostras utilizado. Devem estar disponíveis padrões do preparado e da substância activa pura.

### CAPÍTULO III

#### ESTUDOS RELATIVOS À EFICÁCIA DO ADITIVO

##### 1. Estudos tecnológicos sobre o melhoramento da qualidade dos alimentos para animais

Estes estudos dizem respeito aos aditivos tecnológicos, tais como os antioxidantes, os conservantes, os emulsionantes, os gelificantes, etc., que se destinam a melhorar a qualidade das pré-misturas e dos alimentos para animais, ou a prolongar o seu prazo de conservação.

Será conveniente pôr em evidência os efeitos procurados do aditivo com o auxílio de critérios adequados, comparando os alimentos complementados nas condições de utilização previstas, com os alimentos-testemunha e, eventualmente, com alimentos que contenham aditivos tecnológicos cuja eficácia seja conhecida.

Para cada estudo, será necessário precisar a natureza exacta dos princípios activos, dos preparados, das pré-misturas e dos alimentos, o número de referência dos lotes, a concentração do princípio activo nas pré-misturas e nos alimentos, as condições de ensaio (temperatura, humidade, etc), as datas e a duração dos ensaios bem como os efeitos desfavoráveis e outros incidentes ocorridos durante os ensaios.

##### 2. Estudos sobre a influência exercida pelos aditivos nas produções de origem animal

Estes estudos dizem respeito aos aditivos zootécnicos, tais como os antibióticos, os factores de crescimento, os coccidiostáticos e outras substâncias medicamentosas, etc., que produzem efeitos sobre as produções de origem animal. Os estudos a seguir indicados serão feitos em todas as espécies-alvo, em comparação com grupos de animais-testemunha e, eventualmente, com grupos de animais consumidores de alimentos que contenham aditivos cuja eficácia seja conhecida.

- 2.1. Para os antibióticos e factores de crescimento, estudo dos efeitos sobre a eficiência alimentar, sobre o crescimento do animal bem como sobre o rendimento das produções de origem animal.

Determinação das relações doses/efeitos.

- 2.2. Para os coccidiostáticos e outras substâncias medicamentosas, deve dar-se importância primordial à verificação dos efeitos específicos, nomeadamente o poder profilático (por ex., morbidez, quantidade de oocistos, avaliação dos efeitos nocivos, etc.). Estes dados devem ser acompanhados por informações quanto aos efeitos sobre a utilização dos alimentos, o crescimento dos animais, e ainda sobre a quantidade e a qualidade comercial dos produtos.

##### 2.3. Condições experimentais

Dar uma descrição pormenorizada das experiências efectuadas. O protocolo do ensaio deve permitir uma avaliação estatística dos resultados. Devem ser dadas indicações precisas sobre :

- 2.3.1. Espécie, raça, idade e sexo dos animais, seu modo de identificação.
- 2.3.2. Número de grupos de ensaio e de grupos-testemunha, número de animais de cada grupo. O número de animais seleccionados de cada um dos sexos deve ser suficientemente elevado para fins estatísticos.
- 2.3.3. Concentração da substância activa nos alimentos determinada por uma análise de controlo. Número de referência dos lotes utilizados. Composição qualitativa e quantitativa da ração diária do ponto de vista nutricional.
- 2.3.4. Local dos ensaios, estado fisiológico e sanitário dos animais bem como as diferentes condições de alimentação e criação segundo as práticas em uso na Comunidade.
- 2.3.5. Datas e duração exacta dos ensaios, datas dos exames efectuados.
- 2.3.6. Efeitos desfavoráveis e outros incidentes ocorridos durante os ensaios e o momento do seu aparecimento.

##### 3. Estudos sobre a qualidade dos produtos de origem animal

Análise das propriedades organolépticas, nutricionais, higiénicas e tecnológicas de produtos destinados ao consumo e provenientes de animais que receberam alimentos que contêm o aditivo.

## CAPÍTULO IV

## ESTUDOS RELATIVOS À SEGURANÇA DE UTILIZAÇÃO DO ADITIVO

Os estudos indicados neste capítulo destinam-se a avaliar :

- a segurança de utilização do aditivo nas espécies-alvo,
- os riscos que possam resultar para o consumidor do consumo de géneros alimentícios que contenham resíduos do aditivo,
- os riscos por inalação e contacto cutâneo para os manipuladores do aditivo isolado ou incorporado nas pré-misturas ou nos alimentos,
- os riscos de contaminação do ambiente pelos resíduos do aditivo excretados pelos animais.

Estes estudos serão exigidos na sua totalidade ou em parte, segundo a natureza do aditivo e as condições de utilização propostas. O conhecimento do metabolismo da substância activa nas diferentes espécies-alvo, bem como da composição e da biodisponibilidade dos seus resíduos nos tecidos será determinante na definição da extensão dos estudos a realizar nos animais de laboratório para avaliar os riscos para o consumidor. Por outro lado, o conhecimento da composição e das propriedades físico-químicas e biológicas dos resíduos de aditivos excretados será indispensável para definir os limites dos estudos destinados a avaliar os riscos de contaminação do ambiente.

### 1. Estudos sobre as espécies-alvo

#### 1.1. Estudos toxicológicos do aditivo

Ensaio de tolerância. Estudos dos efeitos biológicos, toxicológicos, macroscópicos e histológicos. Determinação do coeficiente de segurança (margem entre a dose máxima proposta e a dose que provoca efeitos desfavoráveis). O valor deste coeficiente pode ser mínimo ou aproximativo se se provar que a dose que provoca efeitos desfavoráveis excede largamente a dose máxima de utilização proposta.

#### 1.2. Estudos microbiológicos do aditivo

1.2.1. Estudo do espectro microbiológico de acção do aditivo mediante determinação da concentração mínima de inibição nas espécies de bactérias gram-positivas e gram-negativas patogénicas e não patogénicas.

1.2.2. Estudo da resistência cruzada contra antibióticos de uso terapêutico mediante determinação da concentração mínima de inibição dos mutantes produzidos *in vitro*, que apresentam uma resistência cromossómica contra o aditivo.

1.2.3. Estudos destinados a determinar se o aditivo pode seleccionar factores de resistência. Estes estudos devem ser efectuados em condições não laboratoriais nas espécies às quais o aditivo se destina prioritariamente. Em seguida, deve investigar-se se os factores R, eventualmente encontrados, apresentam uma resistência múltipla e se são transmissíveis.

1.2.4. Estudos destinados a determinar os efeitos do aditivo sobre a flora intestinal normal e sobre a formação de colónias de microrganismos patogénicos no tubo digestivo e sua excreção.

1.2.5. Estudos em condições não laboratoriais para determinar a percentagem de bactérias resistentes ao aditivo. Estes estudos devem ser executados em grandes intervalos antes e durante a utilização do aditivo (controlo).

#### 1.3. Estudo do metabolismo e dos resíduos da substância activa<sup>(1)</sup><sup>(2)</sup>

1.3.1. Estudo do balanço metabólico : taxa de excreção urinária, fecal e, eventualmente, respiratória da substância activa ; taxa residual no organismo.

1.3.2. Estudo do metabolismo : absorção, distribuição, biotransformação, eliminação. Eventualmente, dados relativos à excreção biliar, à existência de um ciclo enterohepático e à influência da cecotrofia.

1.3.3. Estudo analítico dos resíduos : composição qualitativa e quantitativa dos resíduos (substância activa, metabólitos) nos diferentes órgãos e tecidos do animal bem como nos produtos comestíveis provenientes do animal, após equilíbrio metabólico e nas condições práticas de utilização do aditivo.

<sup>(1)</sup> Os estudos indicados nos pontos 1.3.1, 1.3.2, 1.3.4 e 1.3.5 serão feitos, de preferência, com moléculas marcadas. A marcação deve ser adequada ao objectivo procurado.

<sup>(2)</sup> Quando se tratar de produtos de fermentação, esses estudos deverão alargar-se também às substâncias que acompanham a substância activa no processo de produção.

- 1.3.4. Estudo farmacocinético dos resíduos (após ingestão repetida do aditivo segundo a utilização proposta): persistência da substância activa e dos principais metabólitos nos diferentes órgãos e tecidos após retirada do alimento complementado.
- 1.3.5. Estudo da biodisponibilidade dos resíduos nos tecidos e nos produtos provenientes das espécies-alvo (ver ponto 3.8).
- 1.3.6. Métodos de controlo: descrição dos métodos de determinação qualitativa e quantitativa utilizados nos estudos exigidos nos pontos 1.3.1 a 1.3.5, com a indicação das taxas de recuperação, da especificidade e dos limites de detecção. Os métodos de análise dos resíduos devem ser suficientemente sensíveis para permitir identificar os resíduos a níveis toxicologicamente inofensivos.

## 2. Estudo dos resíduos dos excretados

- 2.1. Natureza e concentração dos resíduos derivados do aditivo (princípio activo, metabólitos) nos excrementos.
- 2.2. Persistência (duração de semi-vida) e cinética da eliminação desses resíduos nos estrumes sólidos e líquidos e nas camas de palha.
- 2.3. Efeitos sobre a metanogénese.
- 2.4. Decomposição, persistência (duração de semi-vida) e cinética da eliminação no solo (diversos tipos de solo).
- 2.5. Efeitos sobre a fauna do solo e sobre os processos microbianos de transformação (decomposição dos resíduos vegetais e animais, transformação do azoto, etc.).
- 2.6. Efeitos sobre os vegetais terrestres (capacidade de germinação das sementes, crescimento das plantas, absorção pelas plantas, etc.). Efectuar esses estudos num local coberto e ao ar livre com diferentes espécies vegetais.
- 2.7. Solubilidade e estabilidade na água dos produtos derivados do aditivo (substância activa, metabólitos).
- 2.8. Efeitos sobre a fauna e a flora aquáticas:
  - 2.8.1. Efeitos sobre a flora (por ex. *Chlorella*)
  - 2.8.2. Toxicidade nos invertebrados (por ex. *Daphnia magna*)
  - 2.8.3. Toxicidade nos peixes (em pelo menos duas espécies escolhidas entre as espécies selvagens que vivem no território da Comunidade).

## 3. Estudos sobre animais de Laboratório

Estes estudos serão efectuados sobre o princípio activo e sobre os seus principais metabólitos, se estes últimos estiverem presentes nos produtos animais comestíveis e biodisponíveis. Na medida do possível, devem ser escolhidos animais de laboratório que possam metabolizar o aditivo de modo semelhante ao homem.

Deve ser feita uma descrição completa dos ensaios efectuados, onde se precisará a espécie e a origem dos animais utilizados, a dimensão e o número de ensaios e de grupos-testemunha, as doses administradas, a composição do regime alimentar, os resultados das análises dos alimentos, as condições de criação, a duração exacta dos ensaios, as datas dos diferentes exames efectuados e a mortalidade. Os fenómenos patológicos macroscópicos e histopatológicos observados nos animais de laboratório, bem como a indicação do momento do aparecimento de todas as lesões patológicas, devem ser objecto de relatórios exaustivos. Os resultados devem ser apresentados em pormenor, com a respectiva avaliação estatística.

### 3.1. Toxicidade aguda

- 3.1.1. Devem ser efectuados estudos de toxicidade aguda por via oral em duas espécies animais uma das quais será, de preferência, a ratazana. A dose máxima não deve ultrapassar os 2 000 mg/Kg. Devem ser efectuados registos pormenorizados dos efeitos biológicos observados durante um período de pelo menos duas semanas após a ingestão.
- 3.1.2. Devem ser efectuados por meio de ensaios adequados à avaliação dos eventuais riscos associados à manipulação do aditivo, estudos de toxicidade aguda por inalação, do efeito irritante para a pele e, se necessário, para as mucosas, bem como do potencial alérgico.

### 3.2. Mutagénese

Com o objectivo de identificar as substâncias activas ou os seus metabólitos que possuam propriedades mutagenes, deverá efectuar-se uma combinação selectiva de ensaios de mutagénese que se baseiem em diferentes mecanismos genéticos. Esses ensaios devem ser efectuados para activação metabólica na presença e na ausência de um preparado de microsomas de mamíferos.



Recomenda-se o conjunto dos ensaios a seguir indicados :

- a) Um ensaio de mutações genéticas em sistema procariota ;
- b) Um ensaio de mutações genéticas em sistema eucariota *in vitro* ou um ensaio letal recessivo associado ao sexo sobre *Drosophila melanogaster* ;
- c) Um ensaio das lesões cromossómicas *in vitro* e *in vivo*.

Todavia, a combinação de ensaios proposta não significa que apenas estes testes devem ser utilizados ou que outros ensaios, sobretudo testes *in vivo*, não possam ser aceites como alternativas.

Em todos os casos, é necessário indicar as razões da escolha efectuada. Os ensaios serão realizados em conformidade com procedimentos estabelecidos e validados. Conforme os resultados obtidos e o perfil toxicológico geral da substância, bem como a utilização a que se destina, poderão ser indicados exames complementares.

### 3.3. Aspectos metabólicos e farmacocinéticos

Devem ser efectuados estudos do balanço bem como a identificação dos metabólitos por meio de moléculas marcadas de forma adequada e após administração de doses únicas e múltiplas da substância activa durante um período conveniente. Os estudos do metabolismo devem incluir os da farmacocinética da substância activa e dos principais metabólitos. Há que ter em conta as diferenças no metabolismo da substância activa entre as espécies na escolha da espécie mais útil para as investigações toxicológicas posteriores.

### 3.4. Toxicidade subcrónica

Regra geral, esses estudos devem ser efectuados em duas espécies animais, uma das quais, de preferência, a ratazana. A segunda espécie pode ser, em certos casos, uma espécie-alvo.

A substância a testar será administrada por via oral e será estabelecida uma relação dose/efeitos. A duração do ensaio nos roedores será, no mínimo, de 90 dias.

Em alguns casos, é conveniente efectuar estudos com uma duração de seis meses a dois anos no cão ou em outros animais não roedores, com o objectivo de estabelecer a variação de sensibilidade das diferentes espécies animais à substância em causa.

### 3.5. Toxicidade crónica/carcinogénese

De estudos de toxidade crónica devem ser efectuados numa espécie de roedores (de preferência, a ratazana) ; os estudos de carcinogénese devem ser efectuados, de preferência, em duas espécies de roedores. A substância a testar será administrada por via oral em diferentes doses. Pode, igualmente, efectuar-se um estudo combinado de toxicidade crónica/carcinogénese com exposição *in útero*. Os ensaios devem prosseguir durante pelo menos dois anos na ratazana e 80 semanas no rato. Se a experimentação se prolongar além do período mínimo previsto, terminará logo que o número de animais sobreviventes de cada grupo, com excepção daquele que tenha recebido a dose mais forte, seja reduzido a 20 %. Devem ser efectuados exames de química clínica, hematológicos e urinários completos a intervalos adequados enquanto durar a experimentação. Devem ser efectuados exames macroscópicos e histológicos completos em todos os animais mortos durante o ensaio e nos animais sobreviventes no final do ensaio.

### 3.6. Efeitos sobre a reprodução

Os estudos sobre a reprodução devem ser efectuados, de preferência, na ratazana. Estender-se-ão sobre, pelo menos, duas gerações em linha directa e poderão ser combinados com estudos de embriotoxicidade, incluindo a teratogénese. Devem ser cuidadosamente estudados e referidos todos os parâmetros relativos à fertilidade, gestação, parto e situação peri e pós-natal. Os estudos específicos de teratogénese devem ser efectuados sobre, pelo menos, duas espécies animais apropriadas.

### 3.7. Biodisponibilidade

Para se conhecer o destino dos resíduos da substância activa marcada, presentes nos tecidos e nos produtos das espécies-alvo, é necessário um estudo da biodisponibilidade que inclua pelo menos um estudo do balanço dos resíduos após ingestão pelos animais de laboratório.

### 3.8. Toxicologia dos metabólitos

São necessários dados para o cálculo da concentração de resíduos como base para avaliar os riscos para o homem.

Deverão ser apresentados os elementos utilizados para o cálculo dos períodos de espera propostos.

### 3.9. Outros estudos relevantes

Pode ser apresentado qualquer outro estudo susceptível de fornecer informações complementares úteis à avaliação do princípio activo em causa, por exemplo, estudos sobre a toxicidade de substituição.

## CAPÍTULO V

## MODELO DE MONOGRAFIA

1. **Identidade do aditivo**
    - 1.1. Tipo de aditivo segundo o efeito principal (antibiótico, coccidiostático, histomonostático, factor de crescimento, etc.).
    - 1.2. Estado físico, dimensão das partículas.
    - 1.3. Composição qualitativa e quantitativa (substância activa, outros componentes, impurezas).
    - 1.4. Eventuais tratamentos específicos.
  2. **Especificações relativas ao princípio activo**
    - 2.1. Designação genérica, designação química segundo a nomenclatura VICPA, outras designações genéricas e abreviaturas. Número CAS (Chemical Abstract Service Number).
    - 2.2. Fórmula bruta e estrutural, peso molecular. Se se tratar de produtos de fermentação, composição qualitativa e quantitativa dos principais elementos.
    - 2.3. Grau de pureza. Composição qualitativa e quantitativa das impurezas.
    - 2.4. Propriedades físicas relevantes, nomeadamente propriedades electrostáticas, ponto de fusão, ponto de ebulição, temperatura de decomposição, densidade, tensão do vapor, solubilidade na água e nos solventes orgânicos, espectro de absorção, etc.

*NB:* Se for uma mistura de componentes activos, descrever separadamente cada composto principal quimicamente definível e dar as suas proporções na mistura.
  3. **Propriedades físico-químicas e tecnológicas do aditivo**
    - 3.1. Estabilidade em relação aos agentes atmosféricos (luz, temperatura, humidade, oxigénio, etc.).
    - 3.2. Estabilidade aquando da preparação das pré-misturas e dos alimentos, nomeadamente em relação ao calor, à pressão e à humidade. Eventuais produtos de decomposição.
    - 3.3. Estabilidade durante a conservação das pré-misturas e dos alimentos (prazo de conservação).
    - 3.4. Outras propriedades físico-químicas e tecnológicas relevantes, nomeadamente, aptidão para a homogeneização nas pré-misturas e nos alimentos, propriedades relativas à formação de poeiras.
    - 3.5. Interações físico-químicas (incompatibilidade com alimentos, outros aditivos ou medicamentos, etc.).
  4. **Métodos de controlo**
    - 4.1. Descrição dos métodos aplicados para determinar os critérios enunciados nos pontos 1.4, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4 do presente capítulo.
    - 4.2. Descrição dos métodos de análise qualitativa e quantitativa destinados à verificação dos resíduos de aditivos nos produtos de origem animal.
    - 4.3. Quando os métodos referidos tenham sido publicados, pode bastar a indicação da literatura.
  5. **Propriedades biológicas do aditivo**
    - 5.1. Para os coccidiostáticos e outras substâncias medicamentosas : indicação dos efeitos profilácticos (morbidez, número de oocistos, etc.).
    - 5.2. Para os antibióticos e factores de crescimento : indicação dos efeitos sobre a eficiência alimentar, o crescimento dos animais e a qualidade dos produtos de origem animal.
    - 5.3. Eventuais contra-indicações ou precauções, incluindo incompatibilidades biológicas, e respectiva justificação.
  6. **Indicações qualitativas e quantitativas dos resíduos eventuais nos produtos de origem animal, de acordo com a utilização prevista dos aditivos**
  7. **Outras características relevantes para a identificação do aditivo**
-