DIRECTIVE DU CONSEIL

du 18 avril 1983

concernant la fixation de lignes directrices pour l'évaluation de certains produits utilisés dans l'alimentation des animaux

(83/228/CEE)

LE CONSEIL DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté économique européenne,

vu la directive 82/471/CEE du Conseil, du 30 juin 1982, concernant certains produits utilisés dans l'alimentation des animaux [1], et notamment son article 7,

vu la proposition de la Commission,

considérant que la directive 82/471/CEE prévoit que l'examen des produits appartenant à certains groupes 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 produits en cause répondent aux principes généraux imposés par la directive pour toute inscription de nouveaux produits à l'annexe;

considérant qu'il est apparu nécessaire de prévoir que ces dossiers soient établis selon des lignes directrices communes définissant, pour chaque principe, les données scientifiques permettant d'identifier et de caractériser les produits concernés ainsi que les études nécessaires pour évaluer leurs propriétés nutritionnelles et leurs effets biologiques; que ces lignes directrices doivent être applicables à la date à laquelle la directive 82/471/CEE sera elle-même applicable;

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

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 des produits énumérés aux points 1.1 et 1.2 de l'annexe de la directive 82/471/CEE sont établis selon les lignes directrices figurant à l'annexe de la présente directive.

Article 2

Les États membres mettent en vigueur les dispositions législatives, réglementaires ou administratives nécessaires pour se conformer à la présente directive le 13 juillet 1984 au plus tard. Ils en informent immédiatement la Commission.

Article 3

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Luxembourg, le 18 avril 1983.

Par le Conseil

Le président

I. KIECHLE

---

[1] JO n° L 213 du 21. 7. 1982, p. 8.

ANNEXE

LIGNES DIRECTRICES POUR L'ÉVALUATION DE CERTAINS PRODUITS UTILISÉS DANS L'ALIMENTATION DES ANIMAUX

Considérations générales

Les présentes lignes directrices constituent un guide destiné à l'établissement des dossiers des produits visés aux points 1.1 et 1.2 de l'annexe de la directive 82/471/CEE, obtenus par culture de micro-organismes et susceptibles d'être admis comme nouvelles sources de protéines dans l'alimentation des animaux. Ces dossiers doivent permettre d'évaluer les produits concernés dans l'état actuel des connaissances et de s'assurer qu'ils répondent aux principes fondamentaux imposés pour leur admission et faisant l'objet de l'article 6 paragraphe 2 de la directive précitée.

Toutes les études indiquées dans ces lignes directrices pourront être requises et, si nécessaire, des compléments d'information pourront être demandés. En règle générale, toutes les informations visant à établir l'identité du micro-organisme et la composition du milieu de culture ainsi que le procédé de fabrication, les caractéristiques, la présentation, les conditions d'emploi, les méthodes de contrôle et les propriétés nutritionnelles du produit devront être fournies. Il en sera de même des informations nécessaires pour évaluer la tolérance du produit par les espèces cibles ainsi que les risques pouvant résulter directement ou indirectement de son emploi à l'égard de l'homme et de l'environnement. Les études toxicologiques requises à cet effet dépendront de la nature du produit, des espèces animales concernées et du métabolisme du produit chez l'animal de laboratoire.

La documentation à fournir comprendra des rapports détaillés, présentés dans l'ordre et selon la numérotation proposés dans les lignes directrices et accompagnés d'un sommaire. L'absence de toute étude prévue devra être motivée. Les publications citées en référence seront annexées.

Observations

Dans ces lignes directrices, le terme «produit» se réfère au produit protéinique dans l'état où il sera présenté comme aliment ou composant d'un aliment pour animaux.

Toute modification intervenant dans le procédé de fabrication d'un produit ou dans ses conditions d'emploi devra être notifiée et pourra nécessiter la présentation d'un dossier approprié à une nouvelle évaluation.

Présentation des études

I. Micro-organisme, milieu de culture et procédé de fabrication, caractéristiques du produit, présentation et conditions d'emploi, méthodes de contrôle

II. Études des propriétés nutritionnelles du produit

III. Études concernant les conséquences biologiques de l'utilisation du produit dans l'alimentation des animaux

IV. Autres études appropriées

CHAPITRE PREMIER

MICRO-ORGANISME, MILIEU DE CULTURE ET PROCÉDÉ DE FABRICATION, CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT, PRÉSENTATION ET CONDITIONS D'EMPLOI, MÉTHODES DE CONTRÔLE

1. MICRO-ORGANISME

1.1. Taxonomie, provenance, morphologie, propriétés biologiques, manipulation génétique éventuelle.

1.2. Innocuité, possibilités de survie en dehors du fermenteur et conséquences éventuelles sur l'environnement.

1.3. Constance et pureté des souches cultivées. Méthodes utilisées pour vérifier ces critères.

2. MILIEU DE CULTURE ET PROCÉDÉ DE FABRICATION

2.1. Composition du substrat, des substances ajoutées, etc.

2.2. Procédés de fabrication, de dessication et de purification. Procédé de dévitalisation du micro-organisme. Méthodes utilisées pour vérifier la constance de la composition du produit de culture et pour détecter les contaminations chimiques, physiques ou biologiques éventuelles au cours de la production.

2.3. Procédés techniques de préparation pour l'emploi.

3. CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

3.1. Propriétés physiques et physico-chimiques: morphologie macroscopique et microscopique, granulométrie, densité, poids spécifique, hygroscopicité, solubilité, propriétés électrostatiques, etc.

3.2. Composition chimique et caractéristiques:

3.2.1. Teneurs en humidité, protéines brutes, matières grasses brutes, cellulose brute, cendres brutes, hydrates de carbone. Limites de variation de ces teneurs.

3.2.2. Teneurs en azote total, protéines, acides nucléiques, azote ammoniacal, azote amidique, nitrates et nitrites. Composition qualitative et quantitative des acides aminés totaux et libres et des bases puriques et pyrimidiques.

3.2.3. Composition qualitative et quantitative des lipides totaux; acides gras, matières insaponifiables, pigments liposolubles, phospholipides.

3.2.4. Composition de la fraction glucidique.

3.2.5. Composition qualitative et quantitative des composants minéraux.

3.2.6. Composition qualitative et quantitative des vitamines.

3.2.7. Composition qualitative et quantitative des autres constituants: additifs, résidus du substrat et de solvants, autres résidus potentiellement nocifs du métabolisme du substrat, du milieu de culture, du procédé de fabrication.

3.3. Contaminations microbiologiques du produit.

3.4. Comportement et stabilité du produit en l'état et mélange à des aliments d'usage courant, au cours de la conservation.

4. PRÉSENTATION ET CONDITIONS D'EMPLOI

4.1. Dénominations prévues pour la commercialisation du produit.

4.2. Présentations prévues pour la commercialisation du produit.

4.3. Emplois proposés du produit en alimentation animale. Concentrations proposées dans les aliments complets et quantités proposées dans les rations quotidiennes pour les différentes espèces animales concernées.

5. MÉTHODES DE CONTRÔLE

Méthodes d'analyse qualitative et quantitative destinées au contrôle du produit dans les aliments complets et complémentaires.

NB: La description de ces méthodes devra être accompagnée d'indications sur la spécificité, la sensibilité, les limites de détection, les marges d'erreur, les interférences éventuelles d'autres substances. Des échantillons du produit dans ses différentes présentations prévues devront être disponibles.

CHAPITRE II

ÉTUDES DES PROPRIÉTÉS NUTRITIONNELLES DU PRODUIT

1. ÉVALUATION DE LA VALEUR PROTÉIQUE

1.1. Études chimiques, biochimiques et microbiologiques.

1.2. Études sur animaux de laboratoire en comparaison avec des protéines de référence.

2. ÉTUDES SUR ESPÈCES CIBLES

Les études indiquées ci-après se feront sur chaque espèce cible, en comparaison avec un groupe d'animaux témoins recevant, dans les mêmes conditions d'équilibre alimentaire, une alimentation traditionnelle contenant des quantités équivalentes d'azote protéique, pour les ruminants, des quantités équivalentes d'azote total.

2.1. Valeur de supplémentation protéique et énergétique du produit dans les rations dans les conditions pratiques d'emploi proposées, à différents stades physiologiques des animaux (par exemple croissance, gestation, ponte).

2.2. Influences du produit, dans les conditions pratiques d'emploi proposées, sur le taux de croissance, le taux de conversion des rations, la morbidité, la mortalité.

2.3. Niveaux nutritionnels optimaux d'incorporation du produit dans les rations.

2.4. Effets du produit dans les conditions pratiques d'emploi proposées sur les qualités technologiques, organoleptiques ou autres des produits comestibles d'origine animale.

3. CONDITIONS EXPÉRIMENTALES DES ÉTUDES SUR ESPÈCES CIBLES

Donner une description détaillée des essais effectués en précisant:

3.1. L'espèce, la race, l'âge et le sexe des animaux, leur mode d'identification.

3.2. Le nombre de groupes d'essais et témoins; le nombre d'animaux de chaque groupe (ce nombre devra être suffisant pour permettre une analyse statistique en appliquant des paramètres statistiques appropriés).

3.3. Les taux d'incorporation du produit, la composition qualitative et quantitative de la ration alimentaire et son analyse.

3.4. Le lieu des essais, l'état physiologique et sanitaire des animaux ainsi que les différentes conditions d'élevage (selon les pratiques en usage dans la Communauté).

3.5. Lu durée exacte des essais et les dates des examens pratiqués.

3.6. Les effets défavorables survenus au cours des essais et le moment de leur apparition.

CHAPITRE III

ÉTUDES CONCERNANT LES CONSÉQUENCES BIOLOGIQUES DE L'UTILISATION DU PRODUIT DANS L'ALIMENTATION DES ANIMAUX

Les études indiquées dans ce chapitre sont destinées à évaluer la sécurité de l'emploi du produit pour les espèces cibles ainsi que les risques pouvant résulter directement ou indirectement de cet emploi à l'égard de l'homme et de l'environnement. Les études toxicologiques requises à cet effet dépendront de la nature du produit, des espèces animales concernées et du métabolisme du produit chez l'animal de laboratoire.

1. ÉTUDES SUR ESPÈCES CIBLES

Les études indiquées ci-après se feront sur chaque espèce cible, en comparaison avec un groupe d'animaux témoins recevant, dans les mêmes conditions d'équilibre alimentaire, une alimentation traditionnelle contenant des quantités équivalentes d'azote protéique, pour les ruminants, des quantités équivalentes d'azote total.

1.1. Taux maximaux d'incorporation du produit dans la ration journalière, exempts d'effets défavorables.

1.2. Effets possibles du produit sur la fertilité et la reproduction, si approprié.

1.3. Effets de l'ingestion du produit, dans les conditions pratiques d'emploi proposées, sur les micro-organismes de la flore digestive, effets sur la colonisation du tube digestif par des micro-organismes pathogènes.

1.4. Recherche, dans les conditions pratiques d'emploi proposées, de résidus éventuels du produit (substrat, milieu de culture, solvants, contaminants) dans les produits comestibles d'origine animale.

1.5. Recherche, dans les conditions pratiques d'emploi proposées, de résidus éventuels du produit (substrat, milieu de culture, solvants, contaminants) dans les excrétas.

2. ÉTUDES SUR ANIMAUX DE LABORATOIRE

2.1. **Métabolisme**

Devenir du produit dans l'organisme: absorption, accumulation, biotransformation, élimination.

2.2. **Mutagenèse**

Recherches sur les potentialités mutagènes imputables à des contaminants (notamment, mycotoxines et bactéries) ou à des résidus du produit (substrat, milieu de culture, solvants), incluant des essais *in vitro* avec activation métabolique.

2.3. **Études toxicologiques**

Les études indiquées ci-après se feront en comparaison avec des groupes d'animaux témoins recevant, dans les mêmes conditions d'équilibre alimentaire, un régime traditionnel contenant des quantités équivalentes d'azote protéique. Les effets toxiques observés feront l'objet d'études visant à en élucider la cause et les mécanismes et à vérifier, en particulier, qu'ils ne résultent pas d'un déséquilibre nutritionnel ou d'un surdosage du produit à l'étude.

2.3.1. *Toxicité à court terme (90 jours au moins)*

En règle générale, ces études seront effectuées sur deux espèces animales dont l'une appartient à l'ordre des rongeurs. Le produit sera administré dans la ration journalière, au moins à deux taux d'incorporation différents. Ceux-ci seront choisis de manière à déterminer si possible un niveau sans effet et un niveau entraînant un effet défavorable. Les groupes d'animaux comprendront un nombre approprié de sujets de chaque sexe. Un groupe témoin sera toujours inclus.

Il y aura lieu d'enregistrer à intervalles appropriés toutes les données biologiques significatives, en particulier celles qui concernent la croissance, la consommation d'aliments, l'hématologie,

l'analyse urinaire, les paramètres biochimiques, la mortalité, le poids des organes, les symptômes traduisant des effets pathologiques, les altérations histologiques des principaux organes et tissus. Les résultats seront présentés de manière exhaustive et assortis, dans la mesure du possible, d'évaluations statistiques.

2.3.2. *Toxicité à long terme*

En règle générale, ces études seront effectuées sur deux espèces animales dont l'une appartient à l'ordre des rongeurs. Le produit sera administré dans la ration journalière, au moins à deux taux d'incorporation différents. La durée de l'expérience sera de deux ans au moins chez le rat et de 80 semaines au moins chez la souris. Les groupes d'animaux comprendront un nombre approprié de sujets de chaque sexe. Un groupe témoin sera toujours inclus.

Les examens biologiques indiqués au point 2.3.1 seront effectués de préférence sur un petit groupe satellite d'animaux (groupe séparé dépendant du groupe principal) à des intervalles appropriés au cours de l'étude et sur les sujets survivants à la fin de l'étude.

2.3.3. *Cancérogenèse*

Pour l'étude de la cancérogenèse, il y aura lieu de noter le moment de l'apparition, les types histologiques des tumeurs observées et leur incidence. Les effets pouvant résulter d'une modification du régime alimentaire, due à l'incorporation du produit, sur l'incidence des tumeurs ou sur l'incidence et l'évolution de maladies seront évalués en se référant à des groupes témoins, comme indiqué au point 2.3. Les résultats seront présentés de manière exhaustive et assortis, dans la mesure du possible, d'évaluations statistiques.

2.4. **Autres études**

Les études de reproduction s'étendront sur au moins deux générations en ligne directe et pourront être combinées à des études d'embryotoxicité comprenant la tératogenèse. Une attention particulière sera accordée à la fécondité, à la fertilité, à l'observation des portées au cours de leur évolution après la naissance. Toute autre méthode scientifiquement justifiable et susceptible de fournir des résultats mesurables (par exemple toxicité de relais) pourra être fournie.

2.5. **Conditions expérimentales des études sur animaux de laboratoire**

Donner une description détaillée des essais effectués en précisant:

2.5.1. L'espèce, la race, la souche et le sexe des animaux.

2.5.2. Le nombre de groupes d'essais et témoins, le nombre d'animaux de chaque groupe (ce nombre devra être suffisant pour permettre une analyse statistique en appliquant des paramètres statistiques appropriés).

2.5.3. Les taux d'incorporation du produit, la composition qualitative et quantitative de la ration alimentaire et son analyse.

2.5.4. L'ensemble des conditions d'élevage pendant toute la durée des essais.

2.5.5. La durée exacte des essais et les dates des examens pratiqués.

2.5.6. Le taux et l'échelonnement de la mortalité dans chaque lot.

2.5.7. Les symptômes cliniques et les modifications pathologiques survenus au cours des essais et le moment de leur apparition.

3. ÉTUDES CONCERNANT LE MILIEU AMBIANT

Selon la nature des résidus éventuels du produit (substrat, milieu de culture, solvants, contaminants) dans les excrétas des espèces cibles, des données sur le devenir de ces résidus dans les fumiers, les sols et les eaux pourront être requises avec leurs effets sur la biologie du sol, la végétation et la vie aquatique.

CHAPITRE IV

AUTRES ÉTUDES APPROPRIÉES

Selon la nature et les conditions d'emploi du produit, des données concernant les phénomènes d'allergie, d'irritation de la peau, des muqueuses oculaires, respiratoires ou digestives pourront être requises en vue d'évaluer les risques potentiels lors de la manipulation du produit et de les prévenir.