II

(Atti per i quali la pubblicazione non è una condizione di applicabilità)

CONSIGLIO

DIRETTIVA DEL CONSIGLIO

del 16 febbraio 1987

che fissa le linee direttrici per la valutazione degli additivi nell'alimentazione degli animali

(87/153/CEE)

IL CONSIGLIO DELLE COMUNITÀ EUROPEE,

visto il trattato che istituisce la Comunità economica europea,

vista la direttiva 70/524/CEE del Consiglio, del 23 novembre 1970, relativa agli additivi nell'alimentazione degli animali (1), modificata da ultimo dalla direttiva 86/525/CEE della Commissione (2), in particolare l'articolo 9,

vista la proposta della Commissione,

considerando che la direttiva 70/524/CEE prevede che l'esame degli additivi venga effettuato in base alla documentazione inviata ufficialmente agli Stati membri e alla Commissione;

considerando che tali documentazioni devono consentire di accertare che gli additivi siano conformi, per l'uso proposto, ai principi generali istituiti dalla direttiva ai fini della loro iscrizione negli allegati;

considerando che è parso necessario prevedere che tali documentazioni siano preparate conformemente a linee direttrici comuni che stabiliscono i dati scientifici che consentono di identificare e caratterizzare i prodotti interessati, nonché gli esami necessari per valutarne l'efficacia, nonché l'assenza di effetti nocivi nei confronti degli uomini, degli animali e dell'ambiente;

considerando che tali linee direttrici devono costituire innanzitutto una guida di portata generale; che l'entità degli esami necessari per valutare le proprietà o gli effetti degli additivi potrà variare in funzione della natura o delle condizioni di impiego di detti additivi;

considerando che nell'elaborazione degli additivi destinati all'alimentazione degli animali, per garantire che i risultati delle prove sperimentali non vengano contestati, è necessario applicare i principi di buona prassi di laboratorio; che, inoltre è opportuno limitare quanto possibile il ricorso ai procedimenti per i quali vengono utilizzati animali da laboratorio a fini sperimentali o per altri scopi scientifici;

considerando che le suddette linee direttrici sono state fissate in base alle conoscenze scientifiche e tecniche attuali e che, se del caso, potranno essere modificate per tener conto di eventuali progressi nel settore,

HA ADOTTATO LA PRESENTE DIRETTIVA:

Articolo 1

Gli Stati membri prescrivono che la documentazione da allegare ad ogni domanda di iscrizione di un additivo o di un nuovo impiego di additivi negli allegati della direttiva 70/524/CEE sia preparata conformemente alle linee direttrici che figurano nell'allegato della presente direttiva.

Articolo 2

La presente direttiva si applica nel rispetto delle disposizioni concernenti:

a) le buone prassi di laboratorio in materia di reciproca accettazione dei dati per la valutazione dei prodotti chimici e
b) la protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o per altri scopi scientifici.

Articolo 3

Gli Stati membri adottano le disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative necessarie per conformarsi alla presente direttiva entro il 31 dicembre 1987. Essi ne informano immediatamente la Commissione.

(1) GU n. L 270 del 14. 12. 1970, pag. 1.
(2) GU n. L 310 del 5. 11. 1986, pag. 19.

Articolo 4

Gli Stati membri sono destinatari della presente direttiva.

Fatto a Bruxelles, addì 16 febbraio 1987.

Per il Consiglio
Il Presidente
L. TINDEMANS

ALLEGATO

LINEE DIRETTRICI PER LA VALUTAZIONE DEGLI ADDITIVI NELL'ALIMENTAZIONE DEGLI ANIMALI

CONSIDERAZIONI GENERALI

Le presenti linee direttrici rappresentano una guida per la costituzione dei fascicoli concernenti le sostanze potenzialmente ammissibili come additivi negli alimenti per animali. Tali fascicoli devono permettere di valutare gli additivi in base alle conoscenze del momento e di accertare che essi rispondano ai principi fondamentali cui è subordinata la loro ammissione, a norma dell'articolo 7, paragrafo 2, della direttiva 70/524/CEE del Consiglio, del 23 novembre 1970, relativa agli additivi nell'alimentazione degli animali [1].

Tutti gli studi indicati in questo documento concernente le linee direttrici e, se del caso, anche informazioni supplementari potranno essere richiesti. In linea di massima, dovranno essere forniti i risultati degli studi intesi a stabilire l'identità, le condizioni di impiego, le proprietà fisico-chimiche, i metodi di controllo e l'efficacia dell'additivo nonché il suo metabolismo e i suoi effetti biologici e tossicologici sulle specie bersaglio. Gli studi necessari alla valutazione dei rischi per la salute umana e per l'ambiente dipenderanno essenzialmente dalla natura dell'additivo e dalle circostanze del suo impiego. Sotto questo profilo, non prevarrà alcuna regola rigorosa.

Non sarebbe sempre giustificato sottoporre gli additivi destinati esclusivamente agli alimenti per animali domestici ad un complesso di prove sulla tossicità cronica, sulle proprietà mutageniche e cancerogene quanto quelle imposte per gli additivi destinati all'alimentazione degli animali da reddito, i cui prodotti vengono consumati dall'uomo. Per determinare la tossicità cronica sono generalmente sufficienti studi della durata di una anno effettuati su due specie bersaglio oppure su una specie bersaglio e il ratto. In genere si può fare a meno di procedere a studi sulle proprietà mutageniche e cancerogene quando non via sia alcuna indicazione di mutazioni in base alla composizione chimica, alle esperienze nell'utilizzazione o altro. Si può rinunciare a determinare i residui nel caso degli animali familiari.

È di fondamentale importanza conoscere il metabolismo dell'additivo nell'organismo degli animali da reddito nonché i residui e la relativa biodisponibilità. Questa conoscenza deve consentire di stabilire in special modo la portata degli studi tossicologici da effettuare sugli animali da laboratorio al fine di valutare gli eventuali rischi per il consumatore. Questa valutazione non potrà in alcun caso basarsi su dati limitati all'azione diretta dell'additivo sull'animale da laboratorio. Questi non permetterebbero di ottenere alcuna informazione specifica sugli effetti reali dei residui derivanti del metabolismo nelle specie alle quali è destinato l'additivo.

Qualsiasi richiesta di ammissione di un additivo o di nuovo impiego di un additivo dovrà essere accompagnata da un fascicolo nel quale devono figurare relazioni particolareggiate, presentate nell'ordine e secondo la numerazione proposta nelle presenti linee direttrici. La mancanza nel fascicolo di uno qualsiasi degli esami previsti dovrà essere motivata. Le pubblicazioni citate a titolo di riferimento saranno allegate al fascicolo. Le relazioni concernenti le sperimentazioni devono includere il programma e il numero di riferimento della sperimentazione, la descrizione particolareggiata delle prove, i loro risultati e effetti nonché il nome, l'indirizzo e la firma del responsabile dello studio. Le relazioni devono essere corredate di una dichiarazione del responsabile per le buone prassi di laboratorio relativa all'osservanza di queste ultime.

Per la determinazione della proprietà fisico-chimiche, tossicologiche ed ecotossicologiche dovranno essere utilizzati i metodi stabiliti dalla direttiva 84/449/CEE della Commissione, del 25 aprile 1984, relativa al sesto adeguamento al progresso tecnico della direttiva 67/548/CEE del Consiglio, concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative relative alla classificazione, all'imballaggio e all'etichettatura delle sostanze pericolose [2], o altri metodi internazionalmente riconosciuti negli ambienti scientifici. L'impiego di altri metodi dovrà essere giustificato.

In ogni fascicolo figurerà un riassunto adeguato. Ai fascicoli concernenti gli antibiotici, i coccidiostatici e le altre sostanze medicamentose nonché a quelli relativi ai fattori di crescita, sarà inoltre necessario allegare una monografia conforme al modello che figura nel capitolo V e tale da consentire di identificare e caratterizzare l'additivo considerato in funzione delle disposizioni di cui all'articolo 8, paragrafo 1, della direttiva 70/524/CEE.

Nel presente documento, il termine « additivo » si riferisce ai principi attivi o alle preparazioni contenenti principi attivi, nello stato in cui questi ultimi saranno incorporati nelle premiscele e negli alimenti per animali.

Qualsiasi modifica nel procedimento di fabbricazione, nella composizione di un additivo, nelle condizioni e nei settori d'impiego del medesimo dovrà essere notificata in tempo debito alla Commissione dallo Stato membro che le ha presentato il fascicolo. Potrà inoltre essere richiesta la presentazione di una documentazione idonea ad una nuova valutazione. Queste condizioni dovranno essere rispettate in special modo per i prodotti ricavati da microrganismi di cui sia stato modificato il patrimonio genetico o da mutanti naturali.

[1] GU n. L 270 del 14. 12. 1970, pag. 1.
GU n. L 319 dell'8. 12. 1984, pag. 13.
[2] GU n. L 251 del 19. 9. 1984, pag. 1.

SOMMARIO

CAPITOLO I: Riepilogo dei dati del fascicolo

CAPITOLO II: Identità, caratteristiche e condizioni d'impiego dell'additivo
Metodi di controllo

CAPITOLO III: Studi concernenti l'efficacia dell'additivo

1. Studi concernenti il miglioramento della qualità degli alimenti per animali
2. Studi concernenti gli effetti sui prodotti animali
3. Controlli della qualità dei prodotti di origine animale

CAPITOLO IV: Studi concernenti la sicurezza dell'impiego dell'additivo

1. Studi sulle specie bersaglio
1.1. Studi tossicologici dell'additivo
1.2. Studi microbiologici dell'additivo
1.3. Studio del metabolismo e dei residui del principio attivo
2. Studio dei residui escreti
3. Studi su animali da laboratorio

CAPITOLO V: Modello di una monografia

CAPITOLO I

RIEPILOGO DEI DATI DEL FASCICOLO,

CAPITOLO II

IDENTITÀ, CARATTERISTICHE E CONDIZIONI D'IMPIEGO DELL'ADDITIVO METODI DI CONTROLLO

1. **Identità dell'additivo**

1.1. Denominazioni commerciali previste per la commercializzazione.

1.2. Tipo di additivo in base all'azione principale (ad esempio antibiotico, coccidiostatico, istomonostatico, conservativo, ecc.).

1.3. Stato fisico, dimensione delle particelle.

1.4. Composizione qualitativa e quantitativa (principio attivo, altri componenti, impurità).

1.5. Procedimento di fabbricazione. Eventuali trattamenti specifici.

2. **Specificazioni concernenti il principio attivo**

2.1. Denominazione generica, denominazione chimica secondo la nomenclatura UICPA, altre denominazioni generiche e abbreviazioni. Numero CAS (Chemical Abstracts Service Number).

2.2. Formula grezza e formula di struttura, peso molecolare. Se si tratta di prodotti di fermentazione, composizione qualitativa e quantitativa dei principali elementi.

2.3. Grado di purezza. Composizione qualitativa e quantitativa delle impurità.

2.4. Proprietà elettrostatiche, punto di fusione, punto di ebollizione, temperatura di decomposizione, densità, tensione di vapore, solubilità nell'acqua e nei solventi organici, spettri di massa e di assorbimento e qualsiasi altra proprietà fisica pertinente.

2.5. Procedimenti di fabbricazione e di purificazione. Variazioni della composizione delle partite nel corso della produzione.

NB: Se il principio attivo è una miscela di componenti attivi, ciascuno dei componenti principali definibile chimicamente sarà descritto separatamente. Saranno altresì indicate le rispettive percentuali nella miscela.

3. **Proprietà fisico-chimiche e tecnologie dell'additivo**

3.1. Stabilità rispetto agli agenti atmosferici (luce, temperatura, umidità, ossigeno, ecc.).

3.2. Stabilità durante la preparazione delle premiscele e degli alimenti, in particolare stabilità nel confronti del calore, della pressione e dell'umidità. Eventuali prodotti di decomposizione.

3.3. Stabilità durante la conservazione delle premiscele e degli alimenti (durata di conservazione).

3.4. Altre proprietà fisico-chimiche e tecnologiche appropriate, in particolare attitudine all'omogeneizzazione nelle premiscele e negli alimenti, proprietà relative alla formazione di polveri.

3.5. Interazioni fisico-chimiche (incompatibilità con gli alimenti, altri additivi o medicamenti, ecc.).

4. **Condizioni di impiego dell'additivo**

4.1. Impieghi previsti nel campo dell'alimentazione animale (specie o categoria animale, categoria dell'alimento per animali, periodi di utilizzazione e di sospensione della somministrazione, ecc.).

4.2. Controindicazioni.

4.3. Concentrazioni previste nelle premiscele e negli alimenti (tenori di principio attivo, in percentuale ponderale per le premiscele, in mg/kg per gli alimenti).

4.4. Altri impieghi noti del principio attivo o della preparazione (nelle derrate alimentari, in medicina umana o veterinaria, in agricoltura, ecc.). Per ogni impiego occorre indicare le denominazioni commerciali, le indicazioni e le controindicazioni del prodotto.

4.5. Se necessario, misure di prevenzione dai rischi e mezzi di protezione nella produzione e nella manipolazione.

5. **Metodi di controllo**

5.1. Descrizione dei metodi utilizzati per stabilire i criteri enunciati nei punti 1.4, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 e 4.3.

5.2. Descrizione dei metodi di analisi qualitativa e quantitativa destinati al controllo ordinario dell'additivo nelle premiscele e negli alimenti.

5.3. Descrizione dei metodi di analisi qualitativa e quantitativa destinati all'individuazione dei residui degli obiettivi nei prodotti di origine animale.

NB: La descrizione di questi metodi sarà accompagnata da indicazioni sui tassi di recupero, sulla specificità, la sensibilità, le eventuali interferenze, i limiti di rilevamento, la riproducibilità e i metodi di prelievo dei campioni. Dovranno inoltre essere disponibili campioni di riferimento del preparato e del principio attivo.

CAPITOLO III

STUDI CONCERNENTI L'EFFICACIA DELL'ADDITIVO

1. **Studi concernenti il miglioramento della qualità degli alimenti per animali**

Questi studi riguardano gli additivi tecnologici come, ad esempio, gli antiossidanti, i conservativi, gli emulsionanti, i gelificanti, ecc., che sono destinati a migliorare la qualità delle premiscele e degli alimenti per animali o a prolungarne la durata di conservazione.

Sarà opportuno sottolineare gli effetti ricercati con l'uso dell'additivo mediante criteri appositi, confrontando gli alimenti integrati nelle condizioni di impiego previste con alimenti di riferimento e, se necessario, con alimenti contenenti additivi tecnologici la cui efficacia è nota.

Per ogni studio occorrerà indicare la natura esatta del principio attivo, delle preparazioni, delle premiscele e degli alimenti esaminati, il numero di riferimento delle partite, la concentrazione di principio attivo nelle premiscele e negli alimenti, le condizioni delle prove (temperatura, umidità, ecc.), le date e la durata delle prove nonché gli effetti sfavorevoli e altri inconvenienti riscontrati nel corso delle prove.

2. **Studi concernenti gli effetti sui prodotti animali**

Questi studi riguardano gli additivi zootecnici, cioè gli antibiotici, i fattori di crescita, i coccidiostatici e altre sostanze medicamentose, ecc., che hanno effetti diretti sui prodotti animali. Gli studi indicati qui di seguito verranno effettuati su ciascuna specie bersaglio facendo un raffronto con gruppi di animali di riferimento e, se del caso, con gruppi di animali che ricevono alimenti contenenti additivi la cui efficacia è nota.

2.1. Per gli antibiotici e i fattori di crescita, studio degli effetti dell'additivo sull'efficacia alimentare, sulla crescita degli animali e sulla resa delle produzioni animali. Determinazione dei rapporti dosi/effetti.

2.2. Per i coccidiostatici e le altre sostanze medicamentose bisognerebbe dare importanza in primo luogo all'accertamento degli effetti specifici, soprattutto il potere profilattico (per esempio morbilità, numero delle oocisti, valutazione delle lesioni, ecc.) Dovrebbero essere fornite congiuntamente informazioni concernenti gli effetti sull'assimilazione dell'alimento, sulla crescita degli animali, nonché sulla quantità e qualità commerciale dei prodotti di origine animale.

2.3. Condizioni sperimentali.

Descrivere dettagliatamente e singolarmente le prove effettuate. Il verbale dovrà consentire di effettuare un'analisi statistica dei risultati. È necessario fornire indicazioni precise riguardanti:

2.3.1. La specie, la razza, l'età e il sesso degli animali nonché il modo di identificazione dei medesimi.

2.3.2. Il numero di gruppi sotto prova e di riferimento; il numero di animali di ciascun gruppo. Per entrambi i sessi dovrà essere scelto un numero sufficiente di cavie per scopi statistici.

2.3.3. La concentrazione dell'additivo negli alimenti ottenuta mediante un'analisi di controllo. Il numero di riferimento della partita utilizzata. Sul piano della tecnica dell'alimentazione la composizione qualitativa e quantitativa della razione giornaliera.

2.3.4. Il luogo delle prove, lo stato fisiologico e sanitario degli animali e le diverse tecniche e condizioni di alimentazione e di allevamento secondo le pratiche in uso nella Comunità.

2.3.5. Le date e la durata esatta delle prove, le date degli esami effettuati.

2.3.6. Gli effetti sfavorevoli e altri inconvenienti manifestatisi nel corso delle prove ed il momento della loro comparsa.

3. **Controlli della qualità dei prodotti di origine animale**

Esame delle proprietà organolettiche, fisiologico-alimentari, igieniche e tecnologiche di prodotti commestibili di animali ai quali è stato somministrato mangime arricchito con l'additivo.

CAPITOLO IV

STUDI CONCERNENTI LA SICUREZZA DELL'IMPIEGO DELL'ADDITIVO

Gli studi elencati in questo capitolo sono destinati a valutare :

— la sicurezza dell'impiego dell'additivo per le specie bersaglio,

— i rischi per il consumatore che possono derivare dal consumo di prodotti alimentari contenenti residui dell'additivo,

— i rischi dovuti all'inalazione e al contatto cutaneo per le persone che devono manipolare l'additivo in quanto tale o incorporato nelle premiscele o negli alimenti,

— i rischi di contaminazione dell'ambiente ad opera di prodotti provenienti dall'additivo, escreti dagli animali.

Questi studi saranno obbligatori in tutto o in parte in funzione della natura dell'additivo e delle condizioni d'impiego proposte. La conoscenza del metabolismo del principio attivo nelle varie specie bersaglio nonché della composizione e della biodisponibilità dei residui tessutali del medesimo sarà di fondamentale importanza per definire la portata degli studi sugli animali da laboratorio che sono necessari per valutare i rischi per il consumatore. Peraltro, la conoscenza della composizione e delle proprietà fisico-chimiche e biologiche dei prodotti escreti provenienti dall'additivo sarà indispensabile per stabilire i limiti degli studi destinati a valutare i rischi di contaminazione dell'ambiente.

1. Studi sulle specie bersaglio

1.1. *Studi tossicologici dell'additivo*

Prove di tolleranza. Studio degli effetti biologici, tossicologici, macroscopici e istologici. Determinazione del coefficiente di sicurezza (margine fra la dose massima proposta e la dose che provoca effetti negativi). Qualora sia dimostrato che la dose che provoca effetti negativi supera ampiamente la dose massima proposta, del coefficiente si potrà indicare un valore minimo o approssimativo.

1.2. *Studi microbiologici dell'additivo*

1.2.1. Studio del campo d'azione microbiologico dell'additivo tramite accertamento della concentrazione minima di resistenza in specie batteriche patogene e non patogene gram-negative e gram-positive.

1.2.2. Studio della resistenza incrociata ad antibiotici terapeutici tramite accertamento della concentrazione minima di resistenza in mutanti prodotti in vitro aventi una resistenza cromosomica al principio attivo.

1.2.3. Studi volti ad accertare se l'additivo è in grado di selezionare fattori di resistenza. Questi studi vanno svolti in condizioni naturali sulle specie animali cui l'additivo è in primo luogo destinato. Va inoltre accertato se i fattori di resistenze eventualmente rilevati hanno una resistenza multipla e se sono trasferibili.

1.2.4. Studi volti a rilevare l'effetto dell'additivo sulla normale flora intestinale e sulla colonizzazione del tubo digerente e l'escrezione di microrganismi patogeni.

1.2.5. Indagini sul campo volte ad accertare la percentuale di batteri resistenti all'additivo. Questi studi vanno svolti prima e durante la somministrazione dell'additivo, ad intervalli abbastanza distanziati (controllo).

1.3. *Studio del metabolismo e dei residui del principio attivo* [1] [2]

1.3.1. Studio del bilancio metabolico : tasso di escrezione urinaria, fecale e, se del caso, respiratoria del principio attivo ; tassi residui nell'organismo.

1.3.2. Studio del metabolismo : assorbimento, distribuzione, biotrasformazione, eliminazione. Se del caso, dati relativi all'escrezione biliare, all'esistenza di un ciclo enteropatico, all'influenza della cecotrofia.

1.3.3. Studio analitico dei residui : composizione qualitativa e quantitativa dei residui (principio attivo, metaboliti) nei vari organi e tessuti dell'animale nonché dei prodotti commestibili provenienti dall'animale, dopo la prova dell'equilibrio metabolico e nelle condizioni pratiche di impiego dell'additivo.

[1] Gli studi di cui ai punti 1.3.1, 1.3.2, 1.3.4 e 1.3.5 verranno eseguiti utilizzando, preferibilmente, molecole marcate. La marcatura deve essere adeguata all'obiettivo perseguito.

[2] Per i prodotti di fermentazione, questi studi dovrebbero riguardare anche le sostanze affini al principio attivo e ottenute con il procedimento di produzione.

1.3.4. Studio farmacocinetico dei residui (dopo ingestione ripetuta dell'additivo in base alle condizioni d'impiego proposte) : persistere del principio attivo e dei principali metaboliti nei vari organi e tessuti una volta eliminato l'alimento contenènte l'additivo.

1.3.5. Studio della biodisponibilità dei residui nei tessuti e nelle produzioni delle specie borsaglio (vedi punto 3.8).

1.3.6. Metodi di controllo : descrizione dei metodi di determinazione qualitativa e quantitativa utilizzati negli studi richiesti ai punti da 1.3.1 a 1.3.5, con indicazione dei tassi di recupero, della specificità e dei limiti di rilevamento. I metodi di analisi dei residui devono essere sufficientemente sensibili per consentire di rilevare i residui a livello tossicologicamente trascurabili.

2. **Studio dei residui escreti**

2.1. Natura e concentrazione dei residui derivati dall'additivo (principio attivo, metaboliti) negli escrementi.

2.2. Persistenza (durata di semi-vita) e cinetica di eliminazione di questi residui nei liquami, nei letami e nelle lettiere.

2.3. Effetti sulla metanogenesi.

2.4. Degradazione, persistenza (durata di semi-vita) e cinetica di elimazione nei suoli (diversi tipi di suoli).

2.5. Effetti sulla fauna del suolo e sui processi microbici di trasformazione (decomposizione dei residui vegetali e animali, trasformazioni dell'azoto, ecc.).

2.6. Effetti sui vegetali terrestri (germinazione delle sementi, crescita delle piante, assorbimento da parte della pianta, ecc.). Questi studi vanno effettuati in serra e all'aperto su varie specie vegetali.

2.7. Solubilità e stabilità nell'acqua dei prodotti derivati dall'additivo (principio attivo, metaboliti).

2.8. Effetti sulla vita acquatica :

2.8.1. Effetti sulla flora (ad esempio, Chlorella)

2.8.2. Tossicità su invertebrati (ad esempio, Daphnia magna)

2.8.3. Tossicità sui pesci (almeno due specie scelte fra le specie selvatiche viventi nel territorio della Comunità).

3. **Studi su animali da laboratorio**

Questi studi dovranno essere effettuati sul principio attivo e sui suoi principali metaboliti se questi ultimi sono pure presenti nei prodotti alimentari di origine animale e se sono biodisponibili. Nella misura del possibile si dovrà cercare di scegliere animali da laboratorio che nei confronti dell'additivo probabilmente presentano analogie metaboliche con l'uomo.

Occorrerà fornire una descrizione esauriente delle prove effettuate precisando la specie ed il ceppo degli animali utilizzati, le dimensioni ed il numero dei gruppi sottoposti alla sperimentazione e dei gruppi di riferimento, le dosi somministrate, la composizione quantitativa e qualitativa del regime alimentare e i risultati delle analisi degli alimenti, le condizioni di allevamento, la durata esatta delle prove, le date dell'esecuzione delle varie prove e della mortalità. Gli eventi macroscopici di tipo patologico ed istopatologico osservati negli animali sottoposti alle prove e l'indicazione del momento dell'apparizione di tutte le lesioni patologiche dovranno essere esposti in relazioni particolareggiate. Tutti i risultati devono essere illustrati in modo dettagliato ed essere accompagnati da una valutazione statistica.

3.1. *Tossicità acuta*

3.1.1. Gli studi sulla tossicità acuta per via orale dovranno essere effettuati su almeno due specie animali, una delle quali sarà preferibilmente il ratto. La dose massima non dovrebbe superare 2 000 mg/kg di peso corporeo. Saranno riferiti gli esiti di osservazioni particolareggiate sugli effetti biologici nel corso di un periodo di almeno due settimane dopo l'ingestione.

3.1.2. Saranno effettuati studi sulla tossicità acuta per inalazione e sul potere irritante nei confronti della cute e, se necessario, delle mucose, nonché sul potenziale allergogeno procedendo a prove adeguate che consentano di valutare gli eventuali rischi connessi con la manipolazione dell'additivo.

3.2. *Mutagenesi*

Per identificare le sostanze attive o i relativi metaboliti che hanno proprietà mutagene, sarà opportuno effettuare una serie di prove combinate e selettive di mutagenesi basate su differenti meccanismi genetici. Queste prove dovranno essere effettuate per l'attivazione metabolica in presenza e in assenza di un preparato di microsomi di mammiferi.

Si raccomanda di procedere all'insieme delle seguenti prove :

a) prova di mutazione genetica in un sistema procariota,

b) prova di mutazione genetica in un sistema eucariota in vitro o prova letale recessiva collegata al sesso nella Drosophila melanogaster,

c) prova concernente i danni cromosomici in vitro e in vivo.

La serie di indagini summenzionata non implica tuttavia che altre prove, segnatamente prove in vivo, siano inadeguate o che i rusultati di altre ancora non possano essere considerati come una soluzione alternativa.

Dovranno comunque essere indicati i motivi della scelta di una determinata prova. Le prove dovranno essere effettuate conformemente alle procedure comprovate vigenti. In funzione dei risultati ottenuti e tenuto conto dello spettro di tossicità della sostanza nonché dell'uso che si intende fare della medesima, potranno essere opportuni ulteriori esami.

3.3. *Aspetti metabolici e farmacocinetici*

Occorrerà effettuare studi del bilancio metabolico e procedere all'identificazione dei metaboliti utilizzando molecole opportunamente contrassegnate e dopo somministrazione di dosi singole e multiple del principio attivo per un adeguato periodo di tempo. Gli studi del metabolismo devono comprendere quelli sugli aspetti farmacocinetici del principio attivo e dei principali metaboliti. Per la scelta delle specie più adatta su cui effettuare le ricerche tossicologiche ulteriori si terrà conto delle differenze nella mtabolizzazione del principio attivo tra le specie.

3.4. *Tossicità a breve termine*

Come regola generale, queste prove verranno effettuate su due specie animali, una delle quali sarà preferibilmente il ratto. La seconda specie potrà essere, in taluni casi, una specie bersaglio. La sostanza sarà somministrata per via orale e si dovrà inoltre valutare la relazione dose-risposta. La durata della prova effettuata con roditori dovrà essere di almeno 90 giorni.

In taluni casi saranno auspicabili studi della durata di 6 mesi - 2 anni sul cane e su altri animali diversi dai roditori, per stabilire la variazione di sensibilità di diverse specie animali nei confronti della sostanza in causa.

3.5. *Tossicità cronica o a lungo termine / potere cancerogeno*

Gli studi sulla tossicità cronica saranno effettuati su una specie appartenente all'ordine dei roditori (preferibilmente il ratto) mentre quelli sul potere cancerogeno saranno effettuati di preferenza su due specie di roditori. La sostanza sarà somministrata per via orale a differenti dosaggi. È inoltre possibile ricorrere a uno studio associato sulla tossicità cronica e sul potere cancerogeno con esposizione in utero. La durata degli esperimenti sarà di almeno due anni nel caso del ratto e di almeno 80 settimane nel caso del topo. Se continuano oltre il termine previsto, gli esperimenti saranno considerati conclusi quando il numero di animali sopravvissuti di ciascun gruppo, fatta eccezione per quello che ha ricevuto la dose più elevata, sarà ridotto al 20 %. Esami completi clinico-chimici, ematologici e delle urine saranno effettuati ad intervalli appropriati nel corso dell'esperimento. Dovranno inoltre essere effettuati completi studi macroscopici e istologici su tutti gli animali morti durante la sperimentazione e su quelli sopravvissuti al termine della medesima.

3.6. *Effetti sulla riproduzione*

Gli studi riguardanti la riproduzione saranno effettuati preferibilmente sul ratto e si estenderanno su almeno due generazioni in linea diretta ; essi potranno essere associati a studi di embriotossicità, ivi compresa la teratogenesi. Particolare attenzione sarà accordata alla gestazione, alla fecondità, alla fertilità, all'osservazione delle figliate nel corso della loro evoluzione ed i risultati dovranno essere registrati. Gli studi specifici sulla teratogenesi saranno effettuati su almeno due specie adatte, una delle quali sarà il coniglio.

3.7. *Biodisponibilità*

Per chiarire l'evoluzione dei residui del principio attivo marcato presenti nei tessuti e nelle produzioni della specie bersaglio, occorrerà effettuare uno studio di biodisponibilità comprendente almeno uno studio del bilancio dei residui dopo l'ingestione da parte degli animali da laboratorio.

3.8. *Tossicologia dei metabolici*

È richiesta una documentazione per poter calcolare la concentrazione di residui quale base per una valutazione dei rischi per l'uomo.

Devono essere presentati i dati relativi al calcolo dei tempi di attesa proposti.

3.9. *Altri studi appropriati*

Potrà essere presentato qualsiasi altro studio che fornisca informazioni supplementari utili ai fini della valutazione della sostanza in questione.

CAPITOLO V

MODELLO DI UNA MONOGRAFIA

1. **Identità dell'additivo**

1.1. Tipo di additivo in base all'azione principale (ad esempio antibiotico, coccidiostatico, istomonostatico, fattore di crescita, ecc.).

1.2. Stato fisico, dimensione delle particelle.

1.3. Composizione qualitativa e quantitativa (principio attivo, altri componenti, impurità).

1.4. Eventuale trattamento specifico.

2. *Specificazioni inerenti al principio attivo*

2.1. Denominazione generica, denominazione chimica secondo la nomenclatura IUPAC, altre definizioni generiche e abbreviazioni. Numero CAS (Chemical Abstracts Service Number).

2.2. Formula grezza e formula di struttura, peso molecolare. Per quanto concerne i prodotti di fermentazione, composizione qualitativa e quantitativa dei principali elementi.

2.3. Grado di purezza. Composizione qualitativa e quantitativa delle impurità.

2.4. Proprietà fisiche rilevanti, in particolare proprietà elettrostatiche, punto di fusione, punto di ebollizione, temperatura di decomposizione, densità, pressione di vapore, solubilità nell'acqua e nei solventi organici, spettro di assorbimento, ecc.

NB: Se il principio attivo è una miscela di componenti attivi, ciascuno dei componenti principali definibile chimicamente sarà descritto separatamente. Saranno altresì indicate le rispettive percentuali nella miscela.

3. **Proprietà fisico-chimiche e tecnologiche dell'additivo**

3.1. Stabilità, rispetto agli agenti atmosferici (luce, temperatura, umidità, ossigeno, ecc.).

3.2. Stabilità durante la preparazione delle premiscele e degli alimenti, in particolare nei confronti del calore, della pressione e dell'umidità. Eventuali prodotti di decomposizione.

3.3. Stabilità durante la conservazione delle premiscele degli alimenti (durata di conservazione).

3.4. Altre proprietà fisico-chimiche e tecnologiche appropriate, in particolare attitudine all'omogeneizzazione nelle premiscele e negli alimenti, proprietà relative alla formazione di polveri.

3.5. Interazioni fisico-chimiche (incompatibilità con alimenti, altri additivi o medicinali, ecc.).

4. **Metodi di controllo**

4.1. Descrizione dei metodi utilizzati per stabilire i criteri enunciati nei punti 1.3, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4 del presente capitolo.

4.2. Descrizione dei metodi di analisi qualitativa e quantitativa destinati all'individuazione dei residui degli additivi nei prodotti di origine animale.

4.3. Se i metodi sopraddetti sono pubblicati è sufficiente indicare i riferimenti alla letteratura.

5. **Proprietà biologiche dell'additivo**

5.1. Per i coccidiostatici e altri medicinali, indicazione degli effetti profilattici (morbilità, numero delle oocisti, ecc.).

5.2. Per gli antibiotici e i fattori di crescita, indicazione degli effetti sull'assimilazione degli alimenti, sulla crescita degli animali e sulla qualità dei prodotti di origine animale.

5.3. Eventuali controindicazioni o avvertenze, comprese le incompatibilità biologiche con l'indicazione delle relative giustificazioni.

6. **Indicazione della qualità e della quantità dei residui eventuali nei prodotti di origine animale nelle condizioni dell'impiego previsto**

7. **Altre caratteristiche rilevanti per l'identificazione dell'additivo**