

Portaria n.º 69/97
de 29 de Janeiro

Considerando que face à evolução técnico-científica se torna necessário actualizar as linhas directrizes para avaliação dos aditivos, na alimentação animal, aprovadas pela Portaria n.º 1104/89, de 27 de Dezembro;

Considerando que é necessário completar estas linhas directrizes a fim de dispor de critérios para a análise dos pedidos de autorização respeitantes a microrganismos e enzimas como aditivos nos alimentos para animais;

Considerando que é necessário introduzir no processo comunitário de autorização de aditivos as exigências da Directiva n.º 90/220/CEE, do Conselho, de 23 de Abril, relativa à libertação deliberada no ambiente de organismos geneticamente modificados;

Considerando que, para assegurar a conservação sem alteração das estirpes de microrganismos durante todo o período de utilização industrial e conferir às estirpes de microrganismos utilizadas uma referência precisa, é necessário depositar o material de referência numa colecção de culturas reconhecida como Autoridade Internacional de Depósito segundo o Tratado de Budapeste;

Considerando a necessidade de transpor para a ordem jurídica nacional as Directivas n.os 94/40/CE e 95/11/CE, da Comissão, de 22 de Julho e 4 de Maio, respectivamente, que alteram a Directiva n.º 87/153/CEE, do Conselho, que fixa linhas directrizes para a avaliação dos aditivos na alimentação para animais;

Considerando, por último, que o Conselho Consultivo de Alimentação Animal foi ouvido sobre a matéria, nos termos do artigo 4.º do Decreto-Lei n.º 372/87, de 5 de Dezembro:

Manda o Governo, pelo Ministro da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, ao abrigo do n.º 1 do artigo 10.º do Regulamento do Fabrico, Comercialização e Utilização de Aditivos nos Alimentos para Animais, aprovado pelo Decreto-Lei n.º 440/89, de 27 de Dezembro, o seguinte:

1.º São aprovadas as linhas directrizes para a avaliação dos aditivos na alimentação para animais, constantes do anexo à presente portaria e que dela fazem parte integrante, segundo as quais devem ser elaborados os processos respeitantes ao pedido de inclusão de um aditivo ou de uma nova utilização.

2.º É revogada a Portaria n.º 1104/89, de 27 de Dezembro.

Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.

Assinada em 4 de Dezembro de 1996.

Pelo Ministro da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Luís Manuel Capoulas Santos, Secretário de Estado da Agricultura e do Desenvolvimento Rural.

LINHAS DIRECTRIZES PARA A AVALIAÇÃO DOS ADITIVOS NA ALIMENTAÇÃO PARA ANIMAIS

Considerações gerais

As presentes linhas directrizes constituem um guia destinado à organização de processos sobre as substâncias e preparações susceptíveis de serem admitidas como aditivos nos alimentos para animais. Esses processos devem permitir avaliar os aditivos de acordo com o estado actual dos conhecimentos e assegurar que obedeçam aos princípios fundamentais impostos para a sua admissão, os quais são objecto do disposto nos n.os 1, 2 e 3 do artigo 8.º do Regulamento do Fabrico, Comercialização e Utilização de Aditivos nos Alimentos para Animais, aprovado pelo Decreto-Lei n.º 440/89, de 27 de Dezembro.

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. Se o aditivo se destinar a uma categoria específica de animais de uma espécie definida, estes estudos devem ser realizados com animais dessa categoria. Os estudos necessários 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 estrita.

Nem sempre será necessário submeter os aditivos exclusivamente destinados à alimentação de animais de companhia a um programa de ensaios de toxicidade crónica, efeitos mutagénicos e cancerígenos tão exaustivo como o que se exige para os 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 duas espécies alvo ou uma espécie alvo e animais de laboratório. Pode dispensar-se a investigação dos efeitos cancerígenos e mutagénicos quando nem a composição química, nem a experiência prática, nem quaisquer outras considerações indicarem a probabilidade de surgirem alterações. Pode igualmente dispensar-se a determinação de resíduos nos animais de companhia.

O conhecimento do metabolismo do aditivo nos animais de rendimento, bem como dos resíduos e da sua biodisponibilidade é essencial. Este 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, já que estes 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 processo constituído por relatórios pormenorizados apresentados pela ordem e segundo a numeração proposta nas presentes 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, o número de referência, a data do início e do fim 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. Cada um dos lotes de alimentos utilizados em estudos experimentais com animais deve ser analisado por um método reconhecido apropriado, para determinação da concentração das substâncias activas relevantes, devendo ser fornecido um relatório com os resultados das análises. O relatório deve também mencionar as doses individuais determinadas em cada estudo experimental, as datas correspondentes e o nome, endereço e assinatura do responsável pelos controlos. Deve ainda ser anexado aos relatórios um certificado emitido pelo laboratório ou laboratórios em que se realizaram os ensaios, indicando que estes foram conduzidos de acordo com os princípios das boas práticas de laboratório, assinado pelo respectivo responsável.

A determinação das propriedades físico-químicas, toxicológicas e ecotoxicológicas será efectuada pelos métodos fixados no anexo II do Decreto-Lei n.º 280-A/87, relativo à notificação de substâncias químicas e à classificação, embalagem e rotulagem de substâncias perigosas, 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, factores de crescimento, microrganismos e ou preparações enzimáticas devem, além disso, ser necessariamente acompanhados de uma monografia conforme o modelo que consta do capítulo V e que

permita identificar e caracterizar o aditivo em causa nos termos do disposto no n.º 1 do artigo 12.º do Regulamento do Fabrico, Comercialização e Utilização de Aditivos nos Alimentos para Animais, aprovado pelo Decreto-Lei n.º 440/89, de 27 de Dezembro.

Nestas linhas directrizes o termo «aditivo» refere-se às substâncias activas ou às preparações que contêm substâncias activas, no estado em que serão incorporadas nas pré-misturas e nos alimentos para animais. Uma substância activa pode ser uma substância quimicamente especificada, um microrganismo ou uma preparação enzimática.

Nas presentes linhas directrizes a expressão «substâncias quimicamente especificadas» significa substâncias químicas para as quais existe uma designação na nomenclatura IUPAC.

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. Esta exigência será imposta, muito especialmente, nos casos de produtos obtidos a partir de microrganismos cujo património genético tenha sido alterado ou de mutantes naturais.

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 melhoramento das características dos alimentos para animais.

2 - Estudos sobre a influência exercida pelos aditivos na produção 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.

2 - Estudos dos resíduos excretados.

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 propostas;

1.2 - Tipo de aditivo segundo o efeito principal;

1.3 - Composição qualitativa e quantitativa (substância activa, outros constituintes, impurezas);

1.4 - Estado físico, dimensão das partículas;

1.5 - Processo de fabrico incluindo quaisquer tratamentos específicos eventuais.

Nota. - Se a substância activa for constituída por uma mistura de constituintes activos, que devem ser todos claramente definíveis, os constituintes principais devem ser descritos individualmente, devendo ser dadas as respectivas proporções na mistura.

2 - Especificações relativas à substância activa:

2.1 - Para as substâncias quimicamente especificadas: designação genérica, designação química segundo a nomenclatura IUPAC, outras designações genéricas e abreviaturas internacionais. Número CAS (Chemical Abstracts Service Number).

Para os microrganismos: designação e descrição taxonómica, em conformidade com os códigos internacionais de nomenclatura. Podem igualmente ser utilizados outros manuais de sistemática internacionalmente reconhecidos (ver nota a).

Para as preparações enzimáticas: designação, de acordo com as principais actividades enzimáticas, conforme definidas pela IUB/IUPAC. Número EINECS (European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances) e número CAS;

2.2 - Fórmulas empírica e estrutural e peso molecular. Tratando-se de produtos de fermentação, composição qualitativa e quantitativa dos principais constituintes.

Para os microrganismos: designação e localização da colecção de culturas, reconhecida como Autoridade Internacional de Depósito (ver nota b) em que a estirpe foi depositada, se possível na Comunidade Europeia, bem como o número de registo, modificação genética e todas as propriedades relevantes para a respectiva identificação. Além disso, origem, características morfológicas e fisiológicas apropriadas, estádios de desenvolvimento, factores que possam estar envolvidos na actividade biológica (como aditivos) e outros elementos genéticos de identificação. Número de unidades formadoras de colónias (UFC) por grama.

Para as preparações enzimáticas: origem biológica (caso a origem seja microbiana: designação e localização da colecção de culturas, reconhecida como Autoridade Internacional de Depósito, em que a estirpe foi depositada, se possível na Comunidade Europeia, bem como o número de registo, modificação genética e todas as propriedades relevantes para a respectiva identificação, incluindo características genéticas), actividade em relação a substratos tipo relevantes quimicamente puros e outras características físico-químicas.

Deve ser fornecida uma cópia de recibo do depósito do microrganismo junto de uma autoridade internacional de depósito indicando a designação e a descrição taxonómica, em conformidade com os códigos internacionais de nomenclatura;

2.3 - Grau de pureza. Composição qualitativa e quantitativa das impurezas.

Para os microrganismos: estabilidade genética e pureza das estirpes cultivadas.

Para as preparações enzimáticas:

Pureza, através do controlo do grau de contaminação por microrganismos, metais pesados, ausência de toxinas provenientes do organismo de origem (por exemplo, micotoxinas), determinado por um método adequado;

Ausência de actividade antimicrobiana nas concentrações utilizadas em alimentação animal, determinada por um método adequado;

Composição dos constituintes não enzimáticos [nomeadamente os sólidos orgânicos totais (SOT) (ver nota c)];

2.4 - Propriedades relevantes:

Para as substâncias quimicamente especificadas: 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;

Para os microrganismos: propriedades relevantes para a identificação e para a utilização proposta (forma vegetativa ou esporulada, UFC/g, etc.);

Para as preparações enzimáticas: valor(es) óptimo(s) de pH e temperatura e outras propriedades pertinentes;

2.5 - Processo de fabrico e purificação. Meios utilizados. Variações de composição dos lotes durante a produção.

3 - Propriedades físico-químicas, tecnológicas e biológicas do aditivo:

3.1 - Estabilidade (para os microrganismos: perda de actividade biológica, por exemplo, da viabilidade) em relação a condições ambientais, tais como luz, temperatura, pH, humidade e oxigénio. Prazo de validade;

3.2 - Estabilidade (para os microrganismos: perda de actividade biológica, por exemplo, da viabilidade) 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 (para os microrganismos: perda de actividade biológica, por exemplo, da viabilidade) durante o armazenamento das pré-misturas e dos alimentos em condições definidas. Prazo de validade.

Para as preparações enzimáticas: dados sobre a presença inesperada de produtos formados na sequência de reacções, quer químicas quer enzimáticas, da preparação enzimática com constituintes dos alimentos para animais, ou pela degradação da preparação enzimática durante o armazenamento dos alimentos;

3.4 - Outras propriedades físico-químicas, tecnológicas ou biológicas relevantes, nomeadamente aptidão para a formação de misturas homogéneas nas pré-misturas e nos alimentos, propriedades relativas à formação de poeiras, e, para os microrganismos e ou preparações enzimáticas, avaliação da resistência à degradação ou perda de actividade biológica no tubo digestivo ou em sistemas de simulação in vitro;

3.5 - Interações ou incompatibilidade físico-químicas ou biológicas (por exemplo, com alimentos, outros aditivos aprovados ou medicamentos).

4 - Condições de utilização do aditivo:

4.1 - Utilizações previstas na alimentação animal (espécies ou tipos de animais, tipo de alimentos, períodos de utilização e intervalo de segurança);

4.2 - Contra-indicações;

4.3 - Dosagem prevista nas pré-misturas e nos alimentos para animais expressa:

Em percentagem de substância activa, em peso, para as pré-misturas e em mg/kg para os alimentos para animais, no caso das substâncias quimicamente especificadas;

Em unidades pertinentes de actividade biológica, tais como UFC por grama de produto, para os microrganismos, com unidades de actividade pertinentes, para as preparações enzimáticas;

4.4 - Outras utilizações conhecidas da substância activa ou da preparação (nos géneros alimentícios, na medicina humana ou veterinária, na agricultura e na indústria). Fornecer para cada utilização as designações comerciais, as indicações e as contra-indicações do produto;

4.5 - Quando necessário, medidas de prevenção dos riscos e meios de protecção durante a produção e o manuseamento.

5 - Métodos de controlo:

5.1 - Descrição dos métodos aplicados para determinar os critérios enunciados nos n.os 1.3, 2.3, 2.4, 2.5, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 e 4.3;

5.2 - Descrição dos métodos de análise qualitativa e quantitativa utilizados no controlo de rotina do aditivo nas pré-misturas e nos alimentos;

5.3 - Descrição dos métodos utilizados na análise qualitativa e quantitativa de aditivos nos produtos de origem animal.

Nota. - A descrição destes métodos deve ser acompanhada de indicações sobre a taxa de recuperação, a especificidade, a sensibilidade, os limites de detecção, as eventuais interferências e a reprodutibilidade, bem como sobre o método de colheita de amostras utilizado. Devem estar disponíveis padrões de referência da preparação e da substância activa pura.

No caso dos microrganismos, indicação dos métodos de detecção, contagem e identificação e dos marcadores relevantes.

CAPÍTULO III

Estudos relativos à eficácia do aditivo

1 - Estudos sobre melhoramento das características dos alimentos para animais. - Estes estudos dizem respeito aos aditivos tecnológicos, tais como antioxidantes, conservantes, aglomerantes, emulsionantes, estabilizantes, gelificantes, etc., que se destinam a melhorar ou

estabilizar as características das pré-misturas e dos alimentos para animais. Alguns microrganismos e ou preparações enzimáticas podem também ser considerados como aditivos tecnológicos, caso melhorem características relevantes dos alimentos para animais.

Será conveniente demonstrar a eficácia do aditivo com o auxílio de critérios adequados, comparando os alimentos complementados, nas condições de utilização previstas, com alimentos não complementados e, eventualmente, com alimentos que contenham aditivos tecnológicos cuja eficácia seja conhecida.

Para cada estudo será necessário precisar a natureza exacta das substâncias activas, das preparações, das pré-misturas e dos alimentos, o número de referência dos lotes, a concentração das substâncias activas nas pré-misturas e nos alimentos, as condições de ensaio (por exemplo, temperatura e humidade), as datas e a duração dos ensaios, bem como os efeitos desfavoráveis e negativos que se tenham manifestado durante os ensaios.

2 - Estudos sobre a influência exercida pelos aditivos na produção animal. - Estes estudos dizem respeito aos aditivos zootécnicos que influenciam a produção animal. Os estudos a seguir indicados, incluindo a determinação da relação dose/efeito, 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 aditivo cuja eficácia seja conhecida.

Se a substância activa for uma mistura de constituintes activos, deve ser justificada a presença de cada um dos constituintes.

2.1 - Para os coccidiostáticos e outras substâncias medicamentosas, deve dar-se importância primordial à verificação dos efeitos específicos, nomeadamente o poder profiláctico (por exemplo, morbilidade, contagem de oócitos e índice de lesões). Estes dados podem ser acompanhados por informações quanto aos efeitos sobre a eficiência alimentar, o crescimento dos animais e ainda sobre a quantidade e qualidade dos produtos de origem animal comercializáveis.

2.2 - Para outros aditivos zootécnicos (incluindo, quando for caso disso, os microrganismos e ou preparações enzimáticas) devem ser fornecidas informações quanto aos efeitos sobre: a eficiência alimentar, com o crescimento dos animais, o bem-estar e outros parâmetros com influência positiva na produção animal.

2.3 - Condições experimentais. - Dar uma descrição pormenorizada dos ensaios efectuados e dos resultados individuais obtidos. Devem ser comunicados a análise estatística e os métodos utilizados. 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 de cada um dos sexos deve ser suficiente para permitir a análise estatística;

2.3.3 - Concentração da substância activa (e, quando for caso disso, de outras substâncias eventualmente utilizadas como termo de comparação) nos alimentos, determinada por uma análise de controlo, segundo o método reconhecido adequado. Número de referência dos lotes. Composição qualitativa e quantitativa do regime alimentar 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. Controlo da alimentação e medidas tomadas para evitar a contaminação dos grupos testemunha durante o ensaio (especialmente, no caso dos microrganismos, através da contaminação cruzada dos alimentos pelo microrganismo);

2.3.5 - Datas e duração exacta dos ensaios. Datas e natureza dos exames efectuados;

2.3.6 - Efeitos desfavoráveis e outros incidentes durante os ensaios e momento do seu aparecimento.

3 - Estudos sobre a qualidade dos produtos de origem animal. - Análise das propriedades organolépticas, nutricionais, higiénicas e tecnológicas dos produtos provenientes de animais que receberam alimentos contendo 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 por inalação e contacto com outras mucosas, com os olhos ou com a pele, para as pessoas susceptíveis de manipular o aditivo, tal qual ou incorporado nas pré-misturas ou nos alimentos;

Os riscos que possam resultar para o consumidor do consumo de géneros alimentícios que contenham resíduos do aditivo ou seus metabolitos;

Os riscos de contaminação ou de persistência no ambiente do aditivo ou de produtos dele derivados e excretados pelos animais;

Os riscos eventuais para espécies diferentes das espécies alvo.

Estes estudos serão exigidos na sua totalidade ou em parte, segundo a natureza do aditivo e as condições de utilização propostas. De uma forma geral, os microrganismos e ou as preparações enzimáticas devem ser - ou ser produzidas por - microrganismos não patogénicos nem toxicogénicos para as espécies a que se destinam e para o homem, nas condições de utilização previstas.

No caso dos microrganismos e ou preparações enzimáticas, devem ser efectuados os testes de segurança adequados, excepto quando forem fornecidas garantias suficientes da segurança da sua utilização, através de documentação adequada. Para os microrganismos, pelo menos, devem ser efectuados ensaios de tolerância com animais da espécie alvo.

Para as enzimas provenientes de partes comestíveis de plantas ou animais não são exigidos, em princípio, ensaios toxicológicos; para os provenientes de partes de plantas ou animais que não são geralmente consideradas como constituintes do regime alimentar, podem ser exigidos alguns ensaios toxicológicos.

Caso a substância activa seja quimicamente especificada, o conhecimento do seu metabolismo 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 ou de persistência no ambiente.

1 - Estudos sobre as espécies alvo:

1.1 - Estudos toxicológicos do aditivo. - Ensaios de tolerância. Estudos dos efeitos biológicos, toxicológicos, macroscópicos e histológicos. Determinação da margem de segurança entre a dose máxima proposta e a dose que provoca efeitos desfavoráveis. Pode ser indicado para esta margem um valor mínimo ou aproximado, 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 - Se a substância activa for quimicamente especificada e possuir actividade antimicrobiana nas concentrações em que é utilizada na alimentação dos animais, devem ser fornecidos estudos do espectro de acção antibacteriana do aditivo mediante determinação da concentração mínima de inibição (CMI) em diversas espécies de bactérias gram-positivas e gram-negativas patogénicas e não patogénicas;

1.2.2 - Estudo da resistência cruzada a antibióticos de uso terapêutico mediante determinação da concentração mínima de inibição dos mutantes produzidos in vitro que apresentam uma

resistência cromossômica ao aditivo. No caso de microrganismos resistentes a antibióticos de uso terapêutico, deve ser indicada a base genética dessa resistência;

1.2.3 - Estudos destinados a determinar se o aditivo pode seleccionar factores de resistência. Esses 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, são portadores de uma resistência múltipla e se são transmissíveis;

1.2.4 - Estudos destinados a determinar os efeitos do aditivo sobre:

A microflora do tubo digestivo;

A colonização do tubo digestivo, caso se trate de um microrganismo ou de uma mistura de várias estirpes de microrganismos;

A disseminação ou a excreção de microrganismos patogénicos, caso a substância activa quimicamente especificada possua actividade antimicrobiana;

1.2.5 - Caso a substância activa possua acção antimicrobiana, estudos em condições não laboratoriais para controlar a percentagem de bactérias resistentes ao aditivo. Estes estudos devem ser executados com grandes intervalos antes, durante e após (um mês) a utilização do aditivo;

1.2.6 - Se a substância activa for um microrganismo, deve determinar-se se possui resistência a antibióticos;

1.2.7 - Se a substância activa (por exemplo, preparações enzimáticas) for produzida por um microrganismo, deve ser determinado o teor de organismos produtores viáveis;

1.2.8 - Caso o aditivo contenha, ou seja constituído, um microrganismo geneticamente modificado na acepção do Decreto-Lei n.º 126/93, de 20 de Abril, devem ser fornecidas as seguintes informações:

Uma cópia de todas as autorizações escritas da autoridade competente relativas à libertação deliberada dos organismos geneticamente modificados para fins de investigação e desenvolvimento, bem como o resumo da modificação, nos termos do n.º 4.º da Portaria n.º 751/94, de 16 de Agosto;

Um processo técnico completo contendo as informações exigidas no anexo II da Portaria n.º 751/94, de 16 de Agosto, se necessário completado de forma a ter em consideração a diversidade dos locais de utilização do aditivo, incluindo informações sobre os dados e resultados de libertação para fins de investigação e desenvolvimento relativos aos ecossistemas susceptíveis de ser afectados pelo uso do aditivo, bem como uma avaliação dos eventuais riscos para a saúde humana, para a sanidade animal e para o ambiente, decorrentes dos organismos geneticamente modificados (OGM) presentes no produto, nomeadamente informações obtidas durante a fase de investigação e desenvolvimento quanto às consequências da libertação para a saúde humana e para o ambiente;

Condições para a colocação do aditivo no mercado, incluindo condições específicas de utilização e manipulação, e uma proposta de rotulagem e embalagem que deve respeitar, pelo menos, os requisitos constantes do anexo II da Directiva n.º 751/94, de 16 de Agosto.

Se, com base nos resultados de uma libertação notificada nos termos do n.º 1 e n.º 3 da alínea a) da Portaria n.º 751/94 de 16 de Agosto, ou com base em motivos cientificamente fundamentados, o responsável pelo processo considerar que a colocação no mercado ou a utilização do aditivo não representam qualquer risco nem para a saúde humana, nem para a sanidade animal, nem para o ambiente, o referido responsável pode propor a não observância de um ou mais dos requisitos do anexo I à Portaria n.º 751/94, de 16 de Agosto.

Devem ser incluídas informações relativas aos dados ou resultados de libertação do mesmo OGM ou da mesma combinação de OGM, já notificadas ou com uma notificação em curso e ou realizadas pela pessoa responsável pelo processo, dentro ou fora da Comunidade.

Pode ainda ser feita referência a dados ou resultados extraídos de notificações anteriormente apresentadas por outras pessoas, desde que estas últimas tenham dado o seu consentimento por escrito;

1.3 - Estudo do metabolismo e dos resíduos (ver nota d) (ver nota e) (caso a substância activa seja quimicamente especificada):

1.3.1 - Estudo do metabolismo:

Balanço metabólico: taxa e extensão da absorção e eliminação da substância activa;

Identificação das vias metabólicas e dos principais metabolitos;

Distribuição e excreção (biliar, urinária, fecal) dos metabolitos;

Influência eventual da microflora intestinal ou do rúmen, do ciclo entero-hepático e da cecotrofia, no metabolismo;

1.3.2 - Estudo analítico dos resíduos: composição qualitativa e quantitativa dos resíduos (substância activa, metabolitos) nos produtos comestíveis de origem animal, em equilíbrio metabólico e nas condições práticas de utilização do aditivo;

1.3.3 - Estudo cinético dos resíduos (após ingestão repetida do aditivo segundo a utilização proposta): persistência da substância activa e dos principais metabolitos nos diferentes órgãos e tecidos após retirada do alimento complementar;

1.3.4 - Estudo da biodisponibilidade dos resíduos nos produtos comestíveis de origem animal (v. n.º 3.7);

1.3.5 - Métodos de controlo: descrição dos métodos de determinação qualitativa e quantitativa utilizados nos estudos exigidos nos n.os 1.3.1 a 1.3.4, com 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 - Estudos dos resíduos excretados (caso a substância activa seja quimicamente especificada):

2.1 - Natureza e concentração dos resíduos derivados do aditivo (substância activa, metabolitos) nos excrementos;

2.2 - Persistência (duração de semivida) 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 semivida) 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 (por exemplo, decomposição dos resíduos vegetais e animais);

2.6 - Efeitos sobre os vegetais terrestres (por exemplo, germinação das sementes, crescimento das plantas, absorção das plantas). Estes estudos devem ser efectuados em condições controladas e em condições de campo com diferentes espécies vegetais;

2.7 - Solubilidade e estabilidade na água dos produtos derivados do aditivo (substância activa, metabolitos);

2.8 - Efeitos sobre a vida aquática:

2.8.1 - Efeitos sobre a flora (por exemplo Chlorella);

2.8.2 - Toxicidade nos invertebrados (por exemplo, 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 em animais de laboratório. - Estes estudos serão efectuados sobre a substância activa e sobre os seus principais metabolitos ou produtos, se estes últimos estiverem presentes nos produtos animais comestíveis e se estiverem biodisponíveis. Na medida do possível, devem ser escolhidos animais de laboratório que possam digerir e metabolizar o aditivo de modo semelhante ao do homem ou da espécie alvo.

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, o resultado 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 (não se aplica no caso de microrganismos):

3.1.1 - Devem ser efectuados estudos de toxicidade aguda por via oral em duas espécies animais, uma das quais será, de preferência, animais de laboratório. A dose máxima não deve ultrapassar os 2000 mg/kg. Devem ser efectuados registos pormenorizados dos efeitos biológicos observados durante um período de pelo menos duas semanas após a ingestão. Estes estudos não se aplicam às preparações enzimáticas;

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 alergénico.

3.2 - Mutagenicidade:

3.2.1 - Caso a substância activa seja quimicamente especificada com o objectivo de identificar substâncias activas ou seus metabolitos ou produtos que possuam propriedades mutagénicas, deverá efectuar-se uma combinação de ensaios de mutagenicidade baseados em diferentes mecanismos genéticos. Devem ser efectuados ensaios de activação metabólica na presença e na ausência de um preparado de microssomas 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 génicas em sistema eucariota in vitro ou um ensaio local recessivo associado ao sexo em *Drosophila melanogaster*;
- c) Um ensaio de aberrações cromossómicas, in vitro e in vivo.

Todavia, a combinação de ensaios proposta não significa que apenas estes testes devam 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;

3.2.2 - Tratando-se de preparações enzimáticas obtidas a partir de microrganismos exigem-se, normalmente, os seguintes ensaios:

- a) Um ensaio de mutações génicas em bactérias;
- b) Um ensaio de aberrações cromossómicas (de preferência in vitro).

Os ensaios toxicológicos devem, sempre que possível, ser efectuados num lote de produto final purificado da fermentação, antes da incorporação de excipientes, diluentes ou outras substâncias. Estes ensaios devem, regra geral, ser efectuados de acordo com linhas directrizes já estabelecidas (ver nota f) por instituições internacionais reconhecidas; todavia, devido aos efeitos, ao nível celular, da natureza proteica e ou das actividades enzimáticas de determinadas preparações enzimáticas, podem ser necessárias algumas alterações aos protocolos normais dos ensaios, nomeadamente no caso de ensaios in vitro. Essas modificações serão aceitáveis, desde que devidamente justificadas.

O sistema de ensaios destina-se a revelar reacções tóxicas não definidas e efeitos genotóxicos. O conjunto das informações constantes das especificações gerais e desta série de ensaios

tornam possível a avaliação do produto, tanto no que se refere à presença de toxinas específicas já conhecidas, como no que diz respeito a compostos tóxicos desconhecidos.

O relatório toxicológico deve incluir a documentação comprovativa de que os ensaios foram realizados com o material que constitui a base do produto comercial, tal como é descrito no processo tecnológico.

3.3 - Aspectos farmacocinéticos. - Se a substância activa for quimicamente especificada, deve ser efectuada a identificação e o estudo do balanço dos metabolitos por meio de moléculas marcadas ou de outras técnicas adequadas, e após administração de doses únicas e múltiplas da substância activa durante um período conveniente. O estudo do metabolismo deve incluir a determinação da farmacocinética da substância activa e dos principais metabolitos. Na escolha da espécie mais útil para investigações toxicológicas posteriores, há que ter em conta as diferenças entre espécies no que se refere ao metabolismo da substância activa.

3.4 - Toxicidade subcrónica. - Regra geral, estes estudos devem ser efectuados em duas espécies animais (sendo uma delas, de preferência, animais de laboratório). 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/efeito. A duração do ensaio nos roedores será, no mínimo, de 90 dias.

Em alguns casos pode ser desejável efectuar estudos com duração de seis meses a dois anos em animais roedores, com o objectivo de estabelecer a variação de sensibilidade de diferentes espécies animais à substância em causa.

Estes estudos não são necessários no caso dos microrganismos. Para as preparações enzimáticas obtidas a partir de microrganismos pode ser suficiente um ensaio de toxicidade por via oral, com uma duração de 90 dias, numa espécie de roedores.

3.5 - Toxicidade crónica/carcinogénese. - Os estudos de toxicidade crónica devem ser efectuados numa espécie de roedores (de preferência, animais de laboratório); 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 utero. Os ensaios devem prosseguir durante pelo menos 24 meses em animais de laboratório e 18 meses no rato. Se a experiência 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 o ensaio. Devem ser efectuados exames macroscópicos e histológicos completos em todos os animais mortos durante o ensaio e nos animais sobreviventes no final do ensaio.

Estes estudos não são necessários no caso dos microrganismos e das preparações enzimáticas.

3.6 - Efeitos tóxicos sobre a reprodução (caso a substância activa seja quimicamente especificada). - Os estudos sobre a reprodução devem ser efectuados, de preferência, em animais de companhia. Estender-se-ão, pelo menos, por duas gerações em linha directa e poderão ser combinados com estudos de embriotoxicidade, incluindo a teratogenicidade.

Devem ser cuidadosamente observados e referidos todos os parâmetros relativos à fertilidade, gestação, parto e situação peri e pós-natal. Os estudos específicos de teratogénese devem ser efectuados em, pelo menos, duas espécies animais apropriadas.

3.7 - Toxicidade dos metabolitos (caso a substância activa seja quimicamente especificada). - 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 intervalos de segurança propostos. Os estudos referidos no n.º 1.3.4 devem ser efectuados em animais de laboratórios.

3.8 - Outros estudos relevantes. - Pode ser apresentado qualquer outro estudo específico susceptível de fornecer informações complementares úteis para a avaliação da substância em causa (por exemplo, estudos sobre a biodisponibilidade, neurotoxicidade e imunotoxicidade).

CAPÍTULO V

Modelo de monografia

1 - Identidade do aditivo:

1.1 - Designações comerciais propostas;

1.2 - Tipo de aditivo segundo o efeito principal;

1.3 - Composição qualitativa e quantitativa (substância activa, outros componentes, impurezas);

1.4 - Estado físico, dimensão das partículas;

1.5 - Tratamentos específicos eventuais.

Nota. - Se a substância activa for constituída por uma mistura de constituintes activos, que devem ser todos claramente definíveis, os principais constituintes devem ser descritos individualmente, devendo ser dadas as respectivas proporções na mistura.

2 - Especificações relativas à substância activa:

2.1 - Para substâncias quimicamente especificadas: designação genérica, designação química segundo a nomenclatura IUPAC, outras designações genéricas e abreviaturas internacionais. Número CAS (Chemical Abstracts Service Number).

Para os microrganismos: designação e descrição taxonómica, em conformidade com os códigos internacionais de nomenclatura. Podem igualmente ser utilizados outros manuais de sistemática internacionalmente reconhecidos (ver nota g).

Para as preparações enzimáticas: designação de acordo com as principais actividades enzimáticas, conforme definidas pela IUB/IUPAC. Número EINECS (European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances) e número CAS;

2.2 - Fórmulas empírica estrutural e peso molecular. Tratando-se de produtos de fermentação, composição qualitativa e quantitativa dos principais constituintes.

Para os microrganismos: designação e localização da colecção de culturas, reconhecida como Autoridade Internacional de Depósito, em que a estirpe foi depositada, se possível na Comunidade Europeia, bem como o número de registo, modificação genética e todas as propriedades relevantes para a respectiva identificação.

Para as preparações enzimáticas: origem biológica (caso a origem seja microbiana: designação e localização da colecção de culturas, reconhecida como Autoridade Internacional de Depósito, em que a estirpe foi depositada, se possível na Comunidade Europeia, bem como o número de registo, modificação genética e todas as propriedades relevantes para a respectiva identificação), incluindo características genéticas, actividade em relação a substratos tipo relevantes quimicamente puros e outras características físico-químicas;

2.3 - Grau de pureza. - Composição qualitativa e quantitativa das impurezas.

Para os microrganismos: estabilidade genética e pureza das estirpes cultivadas.

Para as preparações enzimáticas:

Pureza [controlo do grau de contaminação por microrganismo metais pesados, ausência de toxinas relevantes para o organismo de origem (por exemplo, micotoxinas), verificada por um método adequado];

Ausência de actividade antimicrobiana nas concentrações utilizadas em alimentação animal, determinada por um método adequado;

Composição dos constituintes não enzimáticos [nomeadamente os sólidos orgânicos totais (SOT)];

2.4 - Propriedades relevantes. - Para as substâncias quimicamente especificadas: propriedades electrostáticas, ponto de fusão, ponto de ebulição, temperatura de concentração, densidade,

tensão de vapor, solubilidade na água e nos solventes orgânicos, espectro de massa e de absorção e qualquer outra propriedade física pertinente.

Para os microrganismos: propriedades relevantes para a identificação e para a utilização proposta (por exemplo, forma vegetativa ou esporulada, UFC/g).

Para as preparações enzimáticas: valor(es) óptimo(s) de pH e temperatura e outras propriedades pertinentes.

3 - Propriedades físico-químicas tecnológicas e biológicas do aditivo:

3.1 - Estabilidade (para os microrganismos, perda de actividade biológica, por exemplo, da viabilidade) aquando da preparação das pré-misturas e dos alimentos, nomeadamente em relação ao calor, à pressão e à humidade. Eventuais produtos de decomposição;

3.2 - Estabilidade (para os microrganismos, perda de actividade biológica, por exemplo, da viabilidade) 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 (para os microrganismos, perda de actividade biológica, por exemplo, da viabilidade) durante o armazenamento das pré-misturas e dos alimentos em condições definidas. Prazo de validade;

3.4 - Outras propriedades físico-químicas tecnológicas ou biológicas relevantes, nomeadamente aptidão para a formação de misturas homogéneas nas pré-misturas e nos alimentos, propriedades relativas à formação de poeiras e, para os microrganismos e ou preparações enzimáticas, avaliação da resistência à degradação ou perda de actividade biológica, no tubo digestivo ou em sistemas de simulação in vitro;

3.5 - Interações ou incompatibilidades físico-químicas ou biológicas (por exemplo, com alimentos, outros aditivos aprovados ou medicamentos).

4 - Métodos de controlo:

4.1 - Descrição dos métodos aplicados para determinar os critérios enunciados nos n.os 1.3, 2.3, 2.4, 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4 do presente capítulo;

4.2 - Descrição dos métodos utilizados na análise qualitativa e quantitativa dos resíduos de aditivos nos produtos de origem animal;

4.3 - Quando os métodos referidos tenham sido publicados, bastarão as referências bibliográficas acompanhadas das respectivas separatas.

5 - Propriedades biológicas do aditivo:

5.1 - Para os coccidiostáticos e outras substâncias medicamentosas: indicação dos efeitos profilácticos (morbilidade, contagem de oócitos e índice de lesões, etc.);

5.2 - Para os aditivos zotécnicos, excepto os enumerados no n.º 5.1, incluindo, quando for caso disso, os microrganismos e ou preparações enzimáticas: indicações dos efeitos sobre a eficiência alimentar, o crescimento dos animais, rendimento e características dos produtos de origem animal, bem-estar e outros parâmetros com influência positiva na produção 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, no seguimento da utilização do aditivo nas condições previstas.

7 - Outras características relevantes para a identificação do aditivo.

(nota a) Por exemplo, o Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Yeast, a taxonomic study, de Lodder e Kreger van Rij, Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi, de Hawksworth, Sutton e Ainsworth, ou The Genus Aspergillus, de Raper e Fennell.

(nota b) Autoridade Internacional de Depósito, na acepção do artigo 7.º do Tratado de Budapeste sobre o reconhecimento internacional, do depósito de microrganismos para efeitos de procedimento em matéria de patentes.

(nota c) $SOT \text{ (percentagem)} = 100 - (\text{percentagem de cinzas} + \text{percentagem de água} + \text{percentagem de diluentes e ou aditivos e ingredientes})$.

(nota d) Os estudos indicados nos n.os 1.3.1, 1.3.3 e 1.3.4 serão feitos, de preferência, com moléculas marcadas ou outros métodos adequados, devendo a escolha do método ser sempre justificada. A marcação deve ser adequada ao objectivo procurado.

(nota e) Quando a substância activa for produzida por fermentação, esses estudos deverão alargar-se também às substâncias que acompanham a substância activa no processo de produção.

(nota f) Tais como:

Presentation of an application for assessment of a food additive prior to its authorization, 1989 (ISBN 92-826-0135-B);

Report of the Scientific Committee for Food on guidelines for the safety assessment of food additives, 1980, 10th report series (EUR 6892).

(nota g) Por exemplo, o Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Yeasts, a taxonomic study, de Lodder e Kreger van Rij, Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi, de Hawksworth, Sutton e Ainsworth, ou The Genus Aspergillus, de Raper e Fennell.