

## **LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES**

### **Résidus dans les animaux d'élevage**

#### **INTRODUCTION**

1. Les études sur les résidus dans les animaux d'élevage sont menées dans l'objectif de quantifier les concentrations de résidus dans la viande, le lait, les œufs et les sous-produits carnés comestibles, comme les graisses, le foie, le rein des ruminants, après utilisation d'un produit pesticide. Les situations susceptibles de faire l'objet de ces études comprennent l'application d'un pesticide à des produits agricoles bruts (PAB), et l'ingestion ou le pâturage de ces produits et de leurs sous-produits par les animaux d'élevage ; les pesticides directement appliqués sur les animaux ; et les pesticides utilisés dans les locaux d'élevage.

#### **OBJECTIF**

2. Les principaux objectifs de l'étude sur les résidus dans les animaux d'élevage sont les suivants :
- établir une base pour la fixation des limites maximales de résidus (LMR) et
  - réaliser des évaluations des risques par ingestion alimentaire pour la sécurité du consommateur.

#### **GENERALITES**

3. Les études sur les résidus dans les animaux d'élevage produisent des données sur le transfert quantitatif des résidus dans la viande, les graisses, le lait, les oeufs et les sous-produits carnés comestibles. Le facteur de transfert ( $T_f$ ) est calculé de la manière suivante :

$$T_f = \frac{\text{concentration de résidu dans les produits comestibles (lait, oeufs ou tissus)}}{\text{concentration de résidu dans la ration alimentaire}}$$

Les études sont généralement réalisées sur des ruminants (bovins) et des volailles (poules pondeuses). De manière générale, il est possible d'extrapoler les résultats d'études d'alimentation de bovins à d'autres animaux domestiques (ruminants, chevaux, porcs, lapins et autres) et ceux des études d'alimentation de poules pondeuses à d'autres types de volailles (dindes, oies, canards et autres).

4. Lorsque les voies métaboliques observées chez les rongeurs (généralement les rats) sont significativement différentes de celles des ruminants (habituellement les chèvres), une étude sur le métabolisme chez le porc peut s'avérer nécessaire. Si les voies métaboliques ainsi déterminées dans l'étude sur le porc sont différentes de celles issues de l'étude sur les ruminants, il faut réaliser une étude d'alimentation du porc afin d'obtenir les informations nécessaires conformément aux objectifs du paragraphe 2, à moins que l'ingestion escomptée par les porcs ne soit pas significative. Dans certains cas,

les études d'alimentation d'animaux chez les ruminants et les volailles peuvent être omises (voir paragraphe 8).

5. Dans le cas d'une application directe des pesticides sur les animaux d'élevage, les demandeurs d'homologation sont invités à consulter les pouvoirs publics afin de déterminer s'il est prévu de soumettre ces utilisations à une réglementation sur les pesticides ou bien sur les médicaments vétérinaires. Les pesticides directement appliqués doivent faire l'objet d'études sur les résidus impliquant la méthode d'application à l'espèce animale concernée à étudier (bains, pulvérisations, arrosages, applications au jet), les doses et les périodes de sevrage prévues, afin de déterminer les concentrations de résidus dans les produits animaux comestibles.

6. Lorsque les limitations portées sur l'étiquette sur l'utilisation d'un pesticide dans locaux tels que des bâtiments d'élevage n'excluent pas une présence possible des résidus dans la viande, le lait ou les oeufs, les études sur les résidus doivent correspondre aux conditions d'exposition maximales. Elles reflèteront toutes les voies possibles de transfert de résidus, comme l'absorption directe, la consommation directe ou la contamination directe, par exemple la contamination du lait par les appareils de traite.

7. Il est conseillé aux demandeurs d'homologation de consulter, avant le début de l'étude, les prescriptions statutaires nationales en matière de protection et de traitement des animaux concernant le prélèvement d'échantillons et notamment l'abattage.

#### **Cas dans lesquels il est possible de s'affranchir d'une étude**

8. Les études conventionnelles sur les résidus dans les animaux d'élevage ne sont pas exigées lorsque les concentrations de résidus sont inférieures à la limite de quantification dans les produits alimentaires pour animaux, d'après les essais de terrain sur les cultures reproduisant l'utilisation proposée du pesticide (notamment, dose maximale, nombre maximal d'applications, délai minimal avant récolte), excepté si l'étude sur le métabolisme dans les animaux d'élevage met en évidence une bioaccumulation significative possible du pesticide dans les produits animaux. Toutefois, la présence de résidus quantifiables dans les aliments pour animaux implique la prise en compte de l'exposition prévue par l'alimentation et des résultats de l'étude sur le métabolisme dans les animaux d'élevage.

9. Dans les cas où une étude sur le métabolisme avec une dose équivalente à 10X, où 1X correspond à l'exposition prévue par l'alimentation, donne dans tous les produits comestibles des concentrations de résidus d'intérêt inférieures à la limite de quantification (LQ) (qui est généralement de 0.01 mg/kg), alors aucun résidu quantifiable n'est escompté dans les produits animaux suite à l'utilisation proposée. Dans ce cas, l'étude sur le métabolisme peut également servir d'étude d'alimentation. En l'absence d'étude sur les résidus dans les animaux d'élevage, les autorités réglementaires considèrent la LQ d'une méthode analytique validée de détermination des résidus dans le lait, la viande et les oeufs comme base de l'établissement de limites maximales de résidus appropriée. Les demandeurs sont par conséquent encouragés à mettre au point des méthodes adaptées à la vérification du respect de la réglementation sur les résidus dans les produits animaux.

10. Dans le cas du traitement de locaux d'élevage, le demandeur d'homologation doit présenter une argumentation scientifique justifiant l'inutilité de mener des études spécifiques, en se fondant sur les données dérivées de traitements directs des animaux et de pratiques d'entretien général et d'élevage animal. Ce type d'argumentation peut convenir si le mode de formulation est identique ou comparable. De surcroît, il convient d'élaborer des restrictions à mentionner sur l'étiquette pour exclure la possibilité de la présence de résidus dans la viande, le lait ou les oeufs.

## **CONDUITE DES ETUDES**

### **Étude d'alimentation d'animaux d'élevage**

#### **Nature de la substance d'essai administrée**

11. La substance d'essai utilisée dans l'étude doit être représentative du résidu dans la plante cultivée ou l'aliment pour animaux.

12. Les animaux d'élevage reçoivent des doses du ou des composants représentatifs du résidu qui a été défini dans l'aliment, grâce aux études sur le métabolisme dans les plantes cultivées, les études sur les cultures en rotation en milieux clos et les études sur la transformation. La définition du résidu d'un pesticide peut englober un composé initial auquel s'ajoutent un ou plusieurs métabolites, ou un ou plusieurs métabolites ou produits de dégradation. Si le composé initial constitue le résidu majeur dans les aliments pour animaux ou les plantes, et s'il est métabolisé par les animaux comme dans les plantes, il suffit d'administrer ce composé initial aux animaux. Lorsqu'un seul métabolite végétal constitue le résidu prédominant dans les aliments et les plantes, l'administration de ce seul métabolite peut convenir. De manière générale, l'utilisation de mélanges dans l'alimentation est déconseillée et demande une justification spécifique.

#### **Forme d'application**

13. La ou les substances d'essai doivent être appliquées sous une forme appropriée, de préférence une capsule qui reproduit les concentrations de résidus dans les aliments et garantit une exposition régulière pendant la durée de l'étude. Appliquée dans les aliments, la substance doit être soigneusement mélangée avec l'aliment et des contrôles analytiques réguliers sont mis en œuvre pour garantir la régularité et la stabilité du produit chimique dans l'aliment pendant toute la durée de l'étude.

14. Dans le cas d'une étude sur un produit administré par le biais des aliments, et qui se trouve dans une formulation spécifiquement conçue pour modifier les caractéristiques d'absorption dans le système digestif, il conviendra d'employer cette même formulation dans l'étude d'alimentation.

#### **Doses**

15. Trois concentrations, 1X, 3X et 10X sont habituellement employées dans une étude sur les résidus dans les animaux d'élevage. La dose 1X est déterminée par estimation de la contribution de plusieurs produits alimentaires à l'exposition globale de l'animal par l'alimentation. Dans ce but, le pourcentage du produit alimentaire dans le régime général de l'animal est corrélé au résidu le plus abondant pour les produits agricoles bruts ou les produits alimentaires. La médiane des résidus en essais supervisés du produit constitue parfois une meilleure représentation du résidu le plus élevé susceptible d'être impliqué en pratique dans les cas de produits et de sous-produits transformés, par exemple, pulpes ou marcs de fruits, farines d'oléagineux, fractions de céréales, etc., et grains ou semences entières, lorsque le PAB, selon toute probabilité, est mélangé ou provient de plusieurs sources avant sa transformation.

16. Une quatrième dose de concentration inférieure à 1X est parfois introduite dans l'étude pour représenter une exposition moins lourde des animaux par l'alimentation. Les facteurs qui peuvent intervenir dans ces cas comprennent la réduction des résidus dans les aliments par le biais de leur transformation, l'utilisation d'informations indiquant une diminution des résidus afin de simuler des expositions réalistes, ou, par exemple, la prise en compte du pourcentage de cultures traitées.

17. Les différentes concentrations dans les aliments utilisés dans l'étude permettent de détailler la relation entre la dose et la concentration de résidus relevée dans les produits animaux. Ces informations sont utilisées de la manière suivante :

- L'introduction de nouvelles utilisations qui n'ont pas été envisagées pendant la conduite de l'étude, et qui augmentent l'exposition par l'alimentation au-delà de celle escomptée par le calcul de la dose à la concentration 1X, demande une révision des limites maximales de résidus existantes et de l'évaluation de l'exposition par l'alimentation. Si toutefois l'exposition de l'animal se situe entre les concentrations de doses de l'essai, des limites maximales de résidus plus élevées calculées par interpolation linéaire de résultats de résidus situés entre ceux obtenus avec les concentrations de doses testées dans l'étude peuvent être utilisées.
- S'il n'existe pas de relation linéaire entre la dose et les concentrations de résidus, il convient de procéder avec précaution pour extrapoler les résultats correspondant à des doses intermédiaires, tandis qu'une extrapolation des données issues des ruminants à d'autres animaux d'élevage nourris par des régimes alimentaires très différents n'est pas forcément valide.

18. La ration alimentaire estimée ou calculée pour parvenir à l'exposition maximale par l'alimentation doit raisonnablement s'appuyer sur les meilleures pratiques d'alimentation, correspondant à un régime alimentaire équilibré convenable aux caractéristiques nutritionnelles adaptées à l'animal d'élevage.

19. Des tableaux d'aliments indiquant les pourcentages des aliments dans les régimes alimentaires des animaux d'élevage sont présentés dans le « Overview of Residue Chemistry Studies Guidance Document » de l'OCDE (1) et sont mis à jour dès l'actualisation des informations. La concentration dans l'aliment est exprimée en mg/kg de poids sec. La concentration de la dose dans l'animal d'élevage est exprimée en mg/kg de masse corporelle et accompagnées des valeurs des masses corporelles des animaux d'essai avant et pendant la période d'alimentation.

### **Calcul des concentrations des doses**

20. Les tableaux d'aliments dans le « Overview of Residue Chemistry Studies Guidance Document » comprennent quatre catégories de produits alimentaires : fourrages ; grains céréaliers et graines de plantes cultivées ; racines et tubercules ; et "sous-produits végétaux". Sont rassemblées dans ces tableaux des données sur l'alimentation animale collectées aux Etats-Unis et au Canada, dans la Communauté européenne et en Australie.

21. Chaque produit alimentaire dans chaque catégorie est considéré comme interchangeable, c'est-à-dire que l'on suppose que l'animal ne sera pas exposé à plus d'un élément par catégorie en même temps. Dans chaque catégorie sont choisis des produits alimentaires dont la consommation est susceptible de produire l'exposition par l'alimentation de la plus élevée. Les études d'alimentation sont menées après obtention de résultats issus des études sur les résidus dans les plantes cultivées. A partir de ces études d'alimentation, la détermination de l'exposition s'appuie sur la valeur de résidu la plus élevée, ou la concentration de résidus moyenne la plus élevée des essais sur le terrain (dans le cas où sont disponibles des informations issues de plusieurs échantillons de terrain par étude) pour le PAB ou la médiane de résidu en essai contrôlé - transformé pour les produits transformés issus de plusieurs sources.

22. Des différences régionales de pratiques d'alimentation et des propositions de bonnes pratiques agricoles (BPA) peuvent modifier les valeurs de X et l'on choisira alors la combinaison de pratiques d'alimentation et de BPA dégageant la valeur de X la plus élevée comme base pour calculer la concentration de dose la plus basse. Pour chaque espèce animale et chaque région est calculée l'exposition

maximale par l'alimentation par kg de masse corporelle. Des exemples détaillés sont donnés dans l'annexe 4 de l'« Overview of Residue Chemistry Studies Guidance Document » de l'OCDE.

23. L'exposition maximale par l'alimentation est déterminée puis utilisée pour calculer la dose 1X pour chaque groupe d'animaux (bovins, moutons, cochons ou volailles). Les études d'alimentation sur ruminants et volailles et/ou cochons (le cas échéant) n'étant exécutées qu'une seule fois, l'exposition utilisée pour chaque espèce dans l'étude est la plus élevée. Par exemple, si cette exposition est estimée plus élevée pour un bovin à viande que pour un bovin laitier, les animaux d'essai recevront la dose calculée pour le bovin à viande, même si des bovins laitiers sont utilisés dans l'étude.

### **Animaux d'essai**

24. Un ruminant et une volaille font l'objet d'études d'alimentation séparées dès lors que la probabilité de la présence des résidus dans leurs aliments est avérée. Les espèces de choix pour ces études sont les vaches laitières en lactation ou les poules pondeuses.

25. Les résultats sur la présence des résidus dans le lait de vaches laitières s'appliquent généralement pareillement aux chèvres laitières. Dans la plupart des cas, les résultats de l'étude d'alimentation sur bovins serviront à établir les LMR de produits animaux pour les chèvres, les porcs, les moutons et les chevaux.

26. Dans le groupe des volailles, les données obtenues sur les poulets sont généralement des substituts acceptés pour d'autres volailles d'élevage, par exemple dindes, oies et canards.

27. Dans le cas de formulation administrée par le biais des aliments, il convient de choisir des animaux dont le poids se situe dans un intervalle approprié (en se référant à l'étiquette du produit) de façon à représenter la dose quotidienne proposée maximale du composé.

### **Nombre d'animaux d'essai**

28. Ruminants et animaux monogastriques : 1 animal non traité (témoin) par étude et 3 animaux par groupe de dose. Dans le cas de substances qui font l'objet d'une bioaccumulation (voir paragraphes 35-37), le groupe de doses le plus élevé inclura au minimum 3 animaux supplémentaires.

29. Poules : 1 animal non traité (témoin) par niveau de dose (3 à 4 par étude) et 9-10 animaux par groupe de doses. Dans le cas de substances faisant l'objet d'une bioaccumulation (voir paragraphe 36-38) le groupe de la dose la plus élevée comprendra au minimum 9 animaux supplémentaires.

### **Utilisation des animaux témoins**

30. Outre l'établissement d'une ligne de base ou blanc au cours d'une période d'acclimatation, il faut prévoir des animaux témoins avec des animaux traités ou recevant les doses tout au long de l'expérience. Cette pratique est hautement recommandée, car les variations des valeurs obtenues chez les animaux témoins ont été observées pendant les études d'alimentation. Ces animaux permettent également de déterminer l'existence d'éventuels effets indésirables sur la production d'œufs, le rendement laitier et la santé générale des animaux de l'étude. Les animaux témoins sont également sources d'échantillons de matériaux contribuant à une validation convenable de la méthode.

### **Etat des animaux**

31. Il faut noter l'état des animaux pendant les phases d'acclimatation et d'administration des doses pendant toute la durée de l'étude, ainsi que des informations sur l'âge et les masses corporelles individuelles, la consommation d'aliments quotidienne (individuellement ou par la moyenne du groupe), la

production de lait ou la production d'œufs. Les vaches doivent être en période de lactation appropriée à la production laitière commerciale et produire le lait avec un rendement moyen. Les poules doivent se trouver en période pleine de production d'œufs avant le début de l'administration. Il convient de noter que le relevé de la consommation d'aliments sous la forme d'une moyenne de groupes plutôt que sur une base individuelle peut engendrer des imprécisions en matière d'administration des doses lorsque certains animaux consomment moins d'aliments que d'autres, et que l'étude ne le rapporte pas correctement.

32. L'état physique des animaux peut fournir d'importantes informations sur les taux d'absorption et d'épuration du produit chimique administré. Il convient de noter tous les problèmes sanitaires, les comportements anormaux, les consommations trop faibles d'aliments ou les traitements inhabituels des animaux, et de débattre de leurs effets sur les résultats de l'étude, s'il y a lieu.

### **Durée de l'étude**

33. Il est recommandé d'intercaler une période d'acclimatation appropriée avant le début de l'administration des doses. Une consommation normale d'aliments, la stabilité de la masse corporelle ou la production de quantités moyennes de lait ou d'œufs, par exemple, démontrent qu'elle a bien joué son rôle.

34. Une fois acclimatés, les animaux reçoivent une dose quotidienne pendant au moins 28 jours, ou jusqu'à observation d'un plateau de la concentration de résidus dans le lait ou les œufs, si celui-ci n'a pas été atteint en 28 jours.

35. La présence de résidus quantifiables dans les matrices de ruminants et de poules pondeuses prélevées (lait, viande, graisse ou œufs) après l'administration de la dernière dose à la concentration nominale de 1X amène certaines autorités à exiger des informations sur l'épuration afin de déterminer à quel moment les concentrations de résidus dans les produits diminueront jusqu'à atteindre la LQ de la méthode utilisée pour vérifier le respect de la réglementation. Une phase d'épuration consécutive à la phase d'administration (qui s'ajoute à l'étude d'alimentation, voir paragraphe 37), ou une étude d'épuration séparée suivant l'étude d'alimentation dans des animaux qui ne sont pas en lactation lorsque le lait a été reconnu comme une voie principale d'élimination du produit chimique (voir paragraphe 38), peut être mise en œuvre. Les autorités peuvent également retenir des propositions qui transposent le déroulement de l'épuration en se fondant sur des études disponibles et d'autres informations pertinentes. Les demandeurs sont invités à consulter leurs autorités réglementaires lorsque celles-ci exigent des études d'épuration.

### **Etudes d'épuration**

36. Une phase d'épuration appliquée au groupe de la dose la plus élevée suffit pour couvrir tous les groupes de doses d'alimentation associés au PAB, car la phase d'épuration a pour objectif de fournir des informations sur le rythme de la diminution. Au moins trois points temporels doivent être relevés après l'arrêt de l'administration de la dose la plus élevée, à savoir le zéro pratique au sevrage et trois autres points temporels, au moins un ruminant et trois poules étant abattus à chaque point temporel. D'autres points temporels en nombre adéquat sont choisis pour estimer la demi-vie d'épuration dans la viande et les graisses, le lait ou les œufs. Il est difficile de prescrire le moment à choisir pour démontrer l'épuration adéquate d'un produit chimique, car il dépend du résidu concerné et de ses propriétés dans les tissus, le lait et les œufs. Les demandeurs d'homologation sont invités à consulter les pouvoirs publics avant d'élaborer une étude.

37. Dans certains cas, par exemple, lorsque les composés qui s'accumulent préférentiellement dans les graisses plutôt que dans le lait, les demandeurs doivent envisager une étude d'épuration séparée sur des bœufs plutôt que sur des bovins laitiers, car les vitesses d'épuration peuvent être modifiées par la voie supplémentaire d'élimination du produit chimique représentée par le lait. On ajoute habituellement trois

animaux à chaque point temporel d'épuration. Là encore, il est conseillé aux demandeurs d'homologation de solliciter l'avis des pouvoirs publics sur le modèle de l'étude.

### **Produits chimiques liposolubles et autres considérations**

38. La nature liposoluble ou non liposoluble d'un résidu affecte notablement ses applications commerciales et sa conformité aux normes établies. La liposolubilité est une propriété du résidu, de la combinaison du pesticide et de ses métabolites, des produits de dégradation et des composés apparentés auxquels s'applique la LMR ou la médiane des résidus en essais contrôlés, essentiellement évaluée d'après la répartition du résidu défini entre le muscle et les graisses observée dans les études sur le métabolisme et les résidus dans les animaux d'élevage. Le choix des protocoles de prélèvement d'échantillons de produits animaux dépend de la nature liposoluble ou non d'un résidu<sup>1</sup>.

39. Les remarques relatives à une éventuelle liposolubilité qui entrent dans la définition d'un résidu pour la viande ou les graisses sont utilisées dans l'élaboration de toutes les études d'alimentation d'animaux d'élevage. Les données obtenues dans une étude sur animaux d'élevage (radiomarquage ou transfert) doivent démontrer sans ambiguïté que l'étude a pris en compte la liposolubilité du produit chimique et/ou des métabolites. Il est difficile de déterminer la nature liposoluble ou non d'un résidu si une étude a été mal conçue, et le prélèvement d'échantillons inadéquat.

40. Pour les résidus considérés comme liposolubles, les concentrations de résidus susceptibles de se trouver dans les dépôts de graisses lorsque l'on se conforme aux directives d'utilisation du pesticide devraient apparaître dans les études sur les résidus dans les animaux d'élevage (à l'exception de la volaille). Il convient alors d'analyser les différents types de matières grasses séparément, car la mise en commun des dépôts de graisses risque de se traduire par une sous-estimation de la concentration de résidus. Pour chaque dépôt de graisse, la description de la matière grasse doit comprendre les éléments suivants :

- la nature de la matière grasse (par exemple périrénale, mésentérique, sous-cutanée),
- la localisation dans l'organisme animal (lorsque plusieurs sont possibles), et
- la teneur en lipides (le gras fondu ou extrait peut être considéré comme constitué à 100 % de lipides) ou bien les données sur la teneur en lipides tirées de la littérature.

### **Prélèvement d'échantillons**

41. Les tableaux A, B et C et le paragraphe 64 et les paragraphes suivant les tableaux donnent des informations détaillées sur les échantillons à prélever sur les ruminants, les poules et les porcs. Les tissus analysés comprennent, à tout le moins, du muscle squelettique, de la graisse périrénale, de la graisse sous-cutanée ou du gras de dos, du foie ou du rein. Il convient de rapporter les données sur le résidu par animal individuel. Lorsque les produits chimiques sont liposolubles, les dépôts de graisse ne doivent pas être rassemblés mais plutôt analysés séparément.

### **Traitement direct de l'animal**

42. Lorsque l'utilisation directe d'un pesticide sur des animaux destinés à l'alimentation est envisagée, les données ont pour objectif d'indiquer dans quelle mesure cette utilisation a engendré des résidus. Les utilisations directes emploient des produits à appliquer par des traitements sur la ligne du dos, des pulvérisations, des bains d'immersion, des arrosages, des saupoudrages, des sacs à poussière, des gratte-

---

<sup>1</sup> Référence : FAO Manual (2002), page 52

dos, des étiquettes d'oreilles et le jet. Le traitement expérimental correspond aussi bien que possible aux conditions d'utilisation du pesticide dans les exploitations tout particulièrement en termes de régime posologique, de pratiques d'élevage animal habituelles, de sexe et de maturité de l'animal. Tous les facteurs susceptibles d'affecter la variabilité des concentrations de résidus dans des produits animaux doivent être envisagés et pris en compte dans la planification et la conduite des essais.

43. Des traitements et des produits différents peuvent être appliqués dans de nombreux types de formulations, notamment des poudres mouillables, des concentrés en suspension, des concentrés émulsifiables, des liquides et des poudres prêtes à l'emploi. Un pesticide qui se présente en plusieurs types de formulation, ou qui est susceptible d'être appliqué par plusieurs modes de traitements, doit faire l'objet d'études séparées reflétant l'utilisation ou la combinaison d'utilisations proposée.

44. En général, chaque espèce animale traitée fera l'objet d'une étude séparée. En effet, les facteurs à inclure dans une étude sur bovins ou une étude sur porcs ne sont pas forcément ceux à prendre en compte dans une étude sur ovins. Par exemple, la tonte récente ou l'absence de tonte d'un mouton (c'est-à-dire, un animal "rasé", "laine courte", "laine longue") soumis à un bain d'immersion ou à une pulvérisation est un facteur à considérer, conjointement au type ou à la race d'animal et aux conditions environnementales.

### **Régime de traitement et posologie**

45. La planification des essais doit garantir l'exposition des animaux la plus élevée possible au pesticide autorisée par l'utilisation envisagée, c'est-à-dire le régime de traitement maximal. Cette condition implique :

- la durée d'exposition la plus longue (durée maximale dans le bain ou sous la pulvérisation, "couverture totale") ou
- la quantité maximale de substance par animal par rapport aux masses corporelles des animaux (arrosage, traitements sur la ligne du dos, saupoudrages), ou
- l'accès libre des animaux à la substance, avec un placement et une recharge appropriés (frotteur de dos et sacs à poussière).

46. En cas de traitements multiples, il convient d'utiliser l'intervalle recommandé entre les traitements le plus court, ainsi que le nombre maximum de renouvellement du traitement dans la saison ou par année.

47. La dose d'administration de la substance active à des animaux individuels doit être exprimée en fonction de la masse corporelle. Si la dose est calculée en termes de surface, il convient de l'exprimer par rapport à la masse corporelle et à la surface corporelle. La concentration d'ingrédient actif des produits appliqués sans dilution est égale à la limite supérieure indiquée par la spécification du produit ou proche de cette limite. Les concentrations dans les bains d'immersion correspondent à la concentration maximale autorisée conformément aux directives d'utilisation proposées sur l'étiquette. Cette concentration est conservée pendant l'essai. Le premier groupe d'animaux qui entrent dans le bain est mis en attente pour un deuxième bain, et les animaux de ce groupe doivent être analysés dans le cadre de l'essai. La recharge des bains d'immersion et des pulvérisations conformément aux instructions données par l'étiquette, l'utilisation de types de buse corrects et la pression et la dose délivrée requise des pulvérisations doivent être scrupuleusement respectés, s'il y a lieu.

### Sélection des animaux d'essai

48. Les facteurs notoirement majeurs, comme le rendement laitier ou la race de l'animal guideront les choix des animaux. Il est important de choisir un échantillon représentatif des animaux dans la population cible pertinente afin de tenir compte de la variabilité animale. L'inclusion d'un bovin à haut rendement en début de lactation et d'un bovin à bas rendement en fin de lactation a été suggérée pour une étude d'élimination du résidu. La variabilité inter-animaux normale devrait ainsi être assurée dans l'étude, au moins dans une certaine mesure.

### Nombre d'animaux d'essai et témoins

49. Les données issues des résultats de résidus dans les tissus cibles de vingt animaux, abattus par cinq à quatre points temporels uniformément distribués suffiront pour étayer une étude sur les résidus dans les tissus, excepté dans le cas d'une utilisation proposée de produits en faibles volumes sur des moutons, où l'on emploie six animaux à chaque point temporel. Ce mode opératoire s'applique toutefois sous réserve qu'aucun animal ne soit perdu pendant l'essai. Au moins un animal témoin non traité doit être abattu au point initial qui suit le traitement ou juste avant.

50. Les résultats issus de vingt animaux sur lesquels le lait est collecté à des points temporels régulièrement espacés suffisent pour une étude de résidu dans le lait.

51. Les animaux traités et témoins doivent être élevés et/ou logés séparément afin d'éviter une contamination croisée. Les animaux, en particulier les bovins, se toilettent et se lèchent fréquemment les uns les autres. Les animaux traités doivent être élevés ensemble dans un enclos suffisamment grand pour qu'ils puissent se comporter normalement.

### Durée de l'étude

52. La durée de l'étude est déterminée par le nombre de délais avant abattage nécessaire pour démontrer sans ambiguïté la déplétion des résidus. Le choix des délais avant abattage doit permettre de déterminer le moment et la durée de la concentration maximale des résidus et leur déplétion consécutive. Les animaux doivent être sacrifiés dans le délai avant abattage proposé sur l'étiquette du produit, mais il est toutefois conseillé de vérifier auprès des pouvoirs publics compétents la longueur du délai avant abattage la plus pratique et de modéliser l'étude en conséquence. Les observations ont montré que le pic de résidus n'est pas toujours atteint dans les tissus dans la semaine qui suit l'application, et il convient alors d'obtenir des résultats complémentaires correspondant à des délais avant abattage plus longs de façon à établir les LMR. Comme il est indiqué dans le chapitre sur les études d'alimentation présenté ci-dessus, des délais avant abattage supplémentaires (en plus de ceux qui servent à établir le délai avant abattage définitif) visant à démontrer l'épuration sont parfois nécessaires pour les composés qui sont liposolubles.

### Prélèvement d'échantillons

53. Les tableaux A, B et C du paragraphe 64 et les paragraphes qui les suivent donnent des informations détaillées sur les échantillons à prélever sur les ruminants, les volailles et les porcs. Les tissus analysés incluront au moins du muscle squelettique, de la graisse périrénale, de la graisse sous-cutanée ou du gras de dos, du foie et du rein. Il convient de prendre toutes les précautions nécessaires pour éviter les contaminations des échantillons de tissus par de la peau ou de la laine pendant la collecte d'échantillons. Les données sont rapportées par animal individuel. Dans le cas de produits chimiques liposolubles, il ne faut pas rassembler les dépôts de graisses, mais les analyser séparément. Toutefois, si la quantité de gras de dos est insuffisante pour l'analyse, ce tissu peut être complété par d'autres graisses sous-cutanées, de préférence, de la graisse de poitrine, dont la source est rapportée dans l'étude.

**Cas impliquant un traitement direct associé à une administration dans l'alimentation de l'animal**

54. Dans certaines situations spécifiques, les données doivent simuler une exposition par application directe d'un produit à l'animal qui s'ajoute à une exposition par l'alimentation avec des plantes traitées. L'étude sur les résidus doit alors correspondre à la concentration de résidus escomptée par les scénarios d'exposition combinés. Il est habituellement acceptable d'ajouter les résidus mesurés dans des études d'alimentation et de traitement direct lorsqu'elles ont été menées séparément pour déterminer les seuils de tolérance appropriés. Toutefois, les LMR ainsi obtenues sont parfois plus élevées que nécessaire pour les produits animaux.

55. Des études menées dans le contexte de la lutte contre les invasions de criquets peuvent impliquer la combinaison d'une étude dans laquelle les animaux sont exposés à un traitement direct à des doses d'application typiques d'un produit proposé, alors qu'ils pâturent en même temps dans une zone exposée aux produits à des doses proposées. L'étude combinée comprend alors deux types de traitement dans une seule étude et correspond à une situation d'exposition plus réaliste que lorsque sont ajoutés les résultats de deux études séparées. Les demandeurs d'homologation sont invités à consulter les autorités nationales avant de décider de procéder à une étude à scénario combiné spécifique.

**Études d'utilisations dans des locaux agricoles**

56. Lors d'une utilisation des pesticides dans des bâtiments agricoles telle que les restrictions d'étiquetage ne peuvent exclure la possibilité de retrouver des résidus dans la viande, le lait ou les œufs, des études de résidus doivent être effectuées dans des conditions d'exposition maximales. Si les locaux d'élevage des animaux sont traités, le demandeur doit présenter une justification scientifique pour expliquer pourquoi les études spécifiques sont superflues, en se fondant sur des données issues d'études de traitements directs des animaux et de manipulation générale, et sur les pratiques d'élevage animal.

57. Il est souvent difficile en pratique de sortir les animaux des bâtiments pendant le traitement, à l'exception des salles de traite. L'étude sera réalisée sur l'espèce et la situation d'hébergement animal correspond à l'exposition la plus élevée possible de l'animal. Les ruminants (bovins), les non-ruminants (porcs) et les volailles (poulets) doivent faire l'objet d'études séparées. Celles-ci correspondront à toutes les voies de transfert de résidus possibles, par exemple les suivantes :

- Absorption directe (par voie dermique ou inhalation) de substances pulvérisées, nébulisées ou sous forme de brouillard en présence des animaux.
- Consommation directe (par exemple, lorsque les animaux lèchent les surfaces traitées par des appâts à base de sucre, lorsque les volailles picorent des granules d'appâts, ou par contamination des aliments, des mangeoires ou des abreuvoirs).
- Contamination directe du lait par dépôt sur le matériel de traite, le traitement des salles de traites, etc.

58. Le traitement doit être appliqué à la dose de traitement la plus élevée et à 1.5 à 2 fois cette dose dans deux bâtiments séparés, ou dans deux zones isolées des mêmes locaux, en employant les méthodes proposées indiquées sur l'étiquette. Des animaux sont utilisés comme témoins dans une troisième zone séparée. Les animaux des trois zones peuvent être de la même race et du même sexe et du même âge moyen avec le même poids et le même état corporel. Les détails adéquats caractérisant la nature des bâtiments et l'application du traitement doivent être rapportés dans l'étude.

59. Si les utilisations proposées impliquent des traitements multiples, les essais doivent être réalisés conformément à ce mode opératoire et les animaux abattus ou les œufs ou le lait collectés après l'achèvement de tous les traitements.

#### **Prélèvement d'échantillons de lait et d'œufs**

60. Avant le début du traitement, du lait ou des œufs produits par tous les animaux sont prélevés afin de déterminer les résidus dans les échantillons témoins. Une fois l'administration commencée, des échantillons de lait et d'œufs seront prélevés au moins deux fois par semaine (c'est-à-dire tous les 3-4 jours). Chaque jour de prélèvement, le lait est récolté deux fois par jour aux moments des traites (matin et après midi). Lorsque l'administration de la dose et le prélèvement ont lieu au même moment de la journée, les échantillons doivent être collectés avant l'administration de la dose. Les échantillons doivent être prélevés en premier lieu sur le groupe témoin, puis sur les animaux traités.

#### **Regroupement des échantillons**

61. Le lait est prélevé deux fois par jour sur chaque vache. Il est possible de regrouper les deux échantillons d'une même vache pour obtenir un échantillon représentatif pour l'analyse. Toutefois, on ne regroupera pas le lait de deux vaches différentes.

62. Les œufs doivent également être récoltés deux fois par jour. Tous les excréments adhérant aux œufs doivent être nettoyés. Les œufs pondus par les poules d'un groupe de dose peuvent être réunis si nécessaire de façon à atteindre un poids d'échantillon adéquat pour l'analyse et les échantillons retenus. Trois échantillons constitués d'un seul œuf doivent être analysés à chaque point temporel.

#### **Abattage et prélèvement d'échantillons de viande et de tissus comestibles**

63. Les ruminants doivent être abattus dans les 24 heures qui suivent l'administration de la dose finale, à l'exception des animaux d'élevage utilisés dans les études de déplétion. Dans une étude de traitement direct, le premier délai d'abattage ou zéro de la période de sevrage est considéré comme intervenant 8 à 12 heures après le dernier traitement. Les poules doivent être abattues dans les 6 heures qui suivent l'administration de la dose finale (zéro du sevrage). Il convient de s'assurer lors de l'abattage des animaux de l'absence de contamination par du sang, de l'urine, des fèces ou d'autres fluides corporels.

64. Des détails sur les échantillons à prélever sont donnés dans les tableaux ci-dessous.

## A. Ruminants

Echantillon prélevé	Méthode de prélèvement	Préparation analytique de l'échantillon	Poids/unité (homogénéisé) échantillon de laboratoire
Viande	Prélever des morceaux env. égaux de longe, de flanchet ou de muscle de patte postérieure (morceau rond)	Après un pré-hachage grossier, faire macérer dans un hachoir, puis mélanger soigneusement.	0.5 kg
Graisse	Prélever des quantités env. égales de graisse sous-cutanée, mésentérique et périrénale.	Après un pré-hachage grossier, faire macérer dans un hachoir, puis mélanger soigneusement <sup>1</sup> .	0.5 kg
Foie	Prélever l'organe entier ou certaines de ses parties représentatives, par exemple, une coupe des lobes	Après un pré-hachage grossier, faire macérer dans un hachoir, puis mélanger soigneusement.	0.4 kg
Rein	Echantillons dans les deux reins	Faire macérer le tissu dans un hachoir, puis mélanger soigneusement.	0.2 kg
Lait cru <sup>2</sup>	Récolter le lait de chaque animal séparément		0.5 l <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pour les composés liposolubles, les échantillons de graisse périrénale, mésentérique et sous-cutanée provenant de ruminants doivent être analysés individuellement, et non rassemblés.

<sup>2</sup> Pour les composés liposolubles, il convient de déterminer les résidus dans les matières grasses de lait à la fin de l'administration des doses en plus de la concentration plateau. La matière grasse est de préférence séparée du lait par des moyens physiques, et non par une extraction dans un solvant chimique, car dans ce cas, les résidus sont extraits tant dans la phase aqueuse que dans la phase lipidique. On obtient ainsi une crème (contenant 40 à 60% de matières grasses) et non 100% de matières grasses de lait ; la teneur en lipides de la crème doit également être rapportée. Dans le cas où une phase de dépuration est incluse après la période d'administration, il est recommandé de prélever des échantillons à au moins quatre points temporels après le dernier jour de traitement.

<sup>3</sup> Si un entreposage intermédiaire par congélation à très basse température s'avère nécessaire, il est possible de réduire la taille d'un échantillon constitué de plusieurs échantillons de lait regroupés à des quantités représentant un échantillon analytique.

Il ne faut jamais combiner ou réunir des tissus provenant d'animaux différents lors du prélèvement d'échantillons.

## B. Volailles

Echantillon prélevé <sup>1</sup>	Méthode de prélèvement	Préparation analytique de l'échantillon	Poids/unité (homogénéisé) échantillon de laboratoire
Viande	Prélever des morceaux env. égaux de patte et de poitrine	Faire macérer des morceaux de viande provenant de 3 poules dans un hachoir puis mélanger soigneusement.	0.5 kg
Peau avec la graisse	Prélever la totalité de la graisse abdominale d'au moins 3 poules	Hacher la graisse de 3 poules <sup>2</sup>	0.05 kg
Foie	Prélever l'organe entier	Hacher les foies de 3 poules <sup>2</sup>	0.05 kg
Œufs		Nettoyer les coquilles, casser les œufs de 3 poules, combiner les blancs et les jaunes et jeter les coquilles <sup>3</sup> Analyse restreinte du jaune et du blanc séparément pour certains produits chimiques <sup>3,4</sup>	3 unités

<sup>1</sup> Dans le cas d'utilisations par voie dermique sur les volailles, il faut également analyser la peau.

<sup>2</sup> Une condition préalable à la combinaison des échantillons prélevés est de disposer d'au moins trois échantillons par groupe de dose (c'est-à-dire qu'au moins 9 animaux sont inclus dans l'étude).

<sup>3</sup> Les échantillons peuvent être préparés avant ou après transport jusqu'au laboratoire d'analyses. Les œufs sont homogénéisés par l'addition d'un solvant au début de l'analyse.

<sup>4</sup> Les analyses des œufs doivent être réalisées sur du blanc et du jaune d'œuf combinés en un seul échantillon. L'analyse des dépôts des résidus liposolubles dans les fractions de jaune et de blanc peut permettre de déterminer comment les résidus se répartissent entre les fractions d'œuf. Il est possible d'analyser les concentrations de résidus dans le jaune et le blanc séparément, à condition d'en connaître les poids respectifs, de façon à pouvoir calculer la quantité de résidus sur œuf entier, ce qui permettra de fixer les LMR. Les blancs et les jaunes doivent être séparés avant l'entreposage des échantillons.

## C. Cochons/Porcs

Echantillon prélevé <sup>1</sup>	Méthode de prélèvement	Préparation analytique de l'échantillon	Poids/unité (homogénéisé) échantillon de laboratoire
Viande	Prélever des morceaux env. égaux de longe, de flanchet ou de muscle de patte postérieure (morceau rond)	Après un pré-hachage grossier, faire macérer dans un hachoir, puis mélanger soigneusement.	0.5 kg
Graisse	Prélever des quantités env. égales de graisse sous-cutanée, mésentérique et périrénale	Après un pré-hachage grossier, faire macérer dans un hachoir, puis mélanger soigneusement.	0.5 kg
Foie	Prélever l'organe entier ou certaines de ses parties représentatives	Après un pré-hachage grossier, faire macérer dans un hachoir, puis mélanger soigneusement.	0.4 kg
Rein	Echantillons dans les deux reins	Faire macérer le tissu dans un hachoir, puis mélanger soigneusement.	0.2 kg
Peau	Prélever des morceaux env. égaux du dos, des flancs et du ventre.	Après un pré-hachage grossier, faire macérer dans un hachoir, puis mélanger soigneusement.	0.5 kg

<sup>1</sup>. Pour les utilisations dermiques sur les porcs, la peau doit également être analysée.

<sup>2</sup>. Pour les composés liposolubles, les échantillons de graisse périrénale, mésentérique et sous-cutanée provenant de ruminants doivent être analysés individuellement, et non rassemblés.

### Analyse des échantillons

65. La méthode analytique, y compris les protocoles d'extraction et de nettoyage des échantillons, doit être décrite en détail ou faire l'objet d'une référence. Des échantillons enrichis doivent être analysés parallèlement à ceux de l'étude d'alimentation pour valider la méthode. La LQ requise pour les produits animaux dépendra de la toxicité du composé, mais doit généralement se situer dans l'intervalle de 0.01-0.05 mg/kg ou moins, si on le juge approprié dans la perspective d'une évaluation des risques alimentaires.

### **Lait et œufs**

66. Des échantillons doivent être analysés pour chaque groupe au jour 0 et à des intervalles de 3 à 4 jours jusqu'à atteindre un plateau des résidus. Une fois le plateau atteint, des échantillons d'œufs et de lait peuvent être analysés à des intervalles hebdomadaires (par exemple, jours 14, 21, 28). Trois échantillons individuels de lait et d'œufs doivent être analysés pour chaque groupe de dose à chaque point temporel. Toutefois, l'absence totale de résidus quantifiables dans des échantillons du ou des groupes de doses les plus élevées rendent inutile l'analyse des groupes de doses plus faibles.

67. Ces informations peuvent être utilisées pour établir une LMR et un seuil de tolérance et pour préciser les évaluations de risques alimentaires.

### **Viandes et tissus comestibles**

68. Il est recommandé de commencer par les analyses des échantillons du groupe de la dose la plus élevée. En l'absence de résidus quantifiables d'un pesticide dans un tissu à ce niveau, aucune autre analyse de ce tissu aux autres doses apportées par l'alimentation n'est nécessaire.

69. Les produits qui doivent être analysés dans une étude d'alimentation comprennent les tissus suivants, utilisés dans l'alimentation humaine : muscles, graisses, foie pour les volailles et également rein pour les ruminants et les porcs. Dans le cas d'utilisations par voie dermique sur les volailles ou les porcs, la peau doit également être analysée.

70. Comme il a été indiqué pour le lait et les œufs, il convient d'analyser trois échantillons individuels de tissus comestibles à chaque dose pour estimer la variabilité des résidus entre les différents animaux. Dans le cas des bovins ou des porcs, cette condition se résume à n'utiliser qu'un échantillon par animal, puisque trois animaux sont généralement inclus à chaque dose. Pour la volaille, des échantillons de tissus provenant de 3 ou 4 oiseaux peuvent être rassemblés pour produire les trois échantillons « individuels » de chaque groupe de dose.

### **Traitement dermique d'animaux d'élevage**

71. Les indications sur l'échantillonnage et l'analyse des tissus données ci-dessus pour les études d'alimentation s'appliquent également à la collecte et à l'analyse des échantillons des études de traitement par application directe. Toutefois, il est recommandé aux demandeurs d'homologation de consulter l'autorité nationale compétente avant d'élaborer une étude.

### **Données de stabilité durant l'entreposage**

72. La collecte de données appropriées sur la stabilité durant l'entreposage est nécessaire pour les produits animaux représentatifs. Des données de stabilité durant l'entreposage doivent être recueillies pour tout échantillon qui n'a pas été analysé dans les 30 jours suivant le prélèvement et elles doivent fournir suffisamment de preuves de l'absence de dégradation significative du résidu d'intérêt entre le prélèvement et l'analyse.

## **RAPPORT DES DONNEES**

### **Données**

73. Les éléments suivants doivent être pris en compte pendant la conception et la conduite de l'essai.

### **Résumé**

- Résumé des résultats essentiels : transfert des résidus dans la viande, le lait, les œufs, le foie, les reins par administration orale, application dermique ou traitement des bâtiments d'élevage, accumulation préférentielle dans certains organes, nature des résidus présents en quantité les plus élevées et existence d'un plateau de la concentration des résidus dans le lait ou les œufs.
- Evaluation de ces résultats,
- Toutes les anomalies de l'étude, évaluation de leur importance par rapport à l'objectif visé.

**Objectif**

Description détaillée des objectifs de l'étude, notamment des questions à résoudre dans l'étude.

**Substance d'essai**

L'ingrédient actif pesticide et/ou les métabolites qui sont administrés doivent être identifiés par les caractéristiques suivantes :

- Nom chimique (IUPAC) ;
- Nom commun (ANSI, BSI, ISO) (s'ils existent)
- Noms et numéros CAS (Chemical Abstracts Service).
- Détails sur la source et la pureté de chaque composé.
- Structure chimique de ces composés sous forme graphique.
- Argumentation justifiant le choix de composés différents du pesticide initial pour l'administration.

**Partie de l'étude portant sur l'animal vivant**

- Le mode d'hébergement des animaux doit être décrit. Les paramètres à inclure comprennent les suivants : dimension des enclos, hébergement individuel ou en groupe, mangeoires et abreuvoirs, température, éclairage et traitement des déchets.
- Animaux d'essai :
  - (i) La description des animaux d'essai doit comprendre les éléments suivants : l'espèce, la race, l'âge, le poids (y compris l'enregistrement des changements de poids) et la condition générale et l'état sanitaire (Tableau 1 du modèle).
  - (ii) Le mode d'identification doit être indiqué (par exemple, marques d'oreille).
  - (iii) Les masses corporelles et la production d'œufs ou de lait doivent être enregistrées pendant les périodes d'acclimatation, d'administration des doses et de sevrage, s'il y a lieu.
  - (iv) Tout problème sanitaire, tout comportement anormal ou tout traitement inhabituel des animaux doit être rapporté et leurs effets sur l'étude discutés.
  - (v) Les changements et les observations relevés sur le foie ou les reins des animaux, lorsque des échantillons sont prélevés après l'abattage, doivent être signalés, avec une attention particulière dans les cas où des observations similaires ont été rapportées dans des études sur des animaux de laboratoire.
- Aliment :
  - (i) Le régime alimentaire des animaux pendant les périodes d'acclimatation et de traitement doit être décrit, en indiquant notamment :

1. Les types d'aliments (par exemple, grains de maïs, pâtée pour poules, granulés de luzerne) et les liquides.
  2. Les quantités fournies (c'est-à-dire quantités précises ou ad libitum).
- (ii) La quantité d'aliments consommée (en poids sec pour les ruminants) doit être indiquée par animal ou par groupe de traitement pendant toute l'étude. Se reporter à la note sur les relevés par groupes de traitement au paragraphe 31.
- Administration des doses :
- (i) Il convient de décrire le mode de préparation de la dose (mélange avec l'aliment ou la ration concentrée, capsule de gélatine, bolus, etc.). La concentration de la substance d'essai dans la ration totale en parties par million (mg/kg d'aliments) (en poids sec pour les ruminants) est demandée. Les doses recommandées sont égales à 1X, 3X et 10X, et l'emploi de doses supplémentaires et tous les écarts par rapport à cette description devront être justifiés.
  - (ii) La concentration nominale et la concentration maximale du traitement doivent être notées pour les traitements directs dans chaque groupe (mg/kg de masse corporelle), conjointement à la concentration pour chaque animal.
  - (iii) Dans le cas de traitements de bâtiments d'élevage, la concentration du produit chimique par unité de surface ou autre unité doit être notée.
  - (iv) Il faut préciser la date de préparation de la dose et indiquer les conditions d'entreposage avant son administration.
  - (v) La méthode d'analyse des aliments enrichis et les résultats de ces analyses sont brièvement décrits. Les analyses visent à démontrer que le pesticide était stable dans l'aliment ou la substance d'administration pendant la totalité de la période de l'entreposage.
  - (vi) La méthode d'application ou de traitement doit être décrite plus en détail lorsque le produit chimique n'est pas administré par voie orale, notamment l'équipement utilisé et la durée d'application ou du traitement le cas échéant, par exemple bain d'immersion ou douche.
  - (vii) La fréquence d'administration ou d'application doit être indiquée lorsque la substance d'essai n'est pas incorporée dans la ration totale ou l'aliment.
  - (viii) Les dates d'administration ou d'application initiale et finale des doses (ou la longueur totale de la période de traitement) sont indiquées, y compris les périodes de sevrage, le cas échéant. Les concentrations des doses ou des produits appliqués sont reportées en mg/kg de ration, en mg/animal/jour et en mg/kg de masse corporelle/jour.
  - (ix) Le nombre d'animaux par groupe recevant les aliments ou par groupe de traitement et par groupe témoin est précisé.
- Prélèvement d'échantillons de lait et d'œufs :
- (i) La collecte du lait et des œufs doit être décrite, et toutes les différences par rapport à la pratique habituelle doivent être expliquées. Le regroupement d'échantillons est signalé, mais le regroupement du lait d'animaux appartenant à un même groupe de traitement n'est pas autorisé.

- (ii) Dans le cas d'aliments contenant des formulations, il faut rapporter la collecte des urines, des fèces (ou des liquides de lavage de cages).

#### **Prélèvement d'échantillons après abattage**

- (i) Le mode d'abattage et le délai en heures entre le moment de l'administration de la dernière dose, ou de l'application du dernier traitement et l'abattage doivent être précisés. Si ce délai est supérieur à 24 heures, il faudra le justifier, et joindre une description des effets de cette prolongation sur les résidus.
- (ii) Tous les tissus prélevés après l'abattage, leur type (par exemple, muscle de cuisse, graisse mésentérique, etc.), et leur poids sont précisés. Il convient de noter tous les cas de regroupement d'échantillons provenant d'animaux différents (normalement acceptables pour les volailles, mais non pour les ruminants).

#### **Manipulation des échantillons et stabilité durant l'entreposage.**

- (i) L'entreposage et la manipulation des tissus, des œufs et du lait entre le prélèvement des échantillons et des analyses doivent être décrits. Les facteurs à indiquer sont les suivants :
  1. Préparation des échantillons (par exemple hachage) avant l'entreposage ;
  2. Récipients ;
  3. Intervalle entre prélèvement et entreposage ;
  4. Température d'entreposage ;
  5. Durée d'entreposage (dates de prélèvements, transports, analyses, etc.) ; et
  6. Mode de transport, le cas échéant.
- (ii) Si l'analyse des échantillons intervient après le délai de 30 jours, il faut démontrer que l'entreposage n'affecte pas les résultats de l'étude, c'est-à-dire présenter des preuves ou des références attestant d'une stabilité durant l'entreposage adéquate.

#### **Extraction, purification, détermination, évaluation.**

Description de la méthode utilisée pour préparer et mesurer les échantillons ; identification des concentrations de résidu dans les tissus, le lait et les œufs, et méthodes utilisées pour évaluer les résultats.

#### **Analyse des échantillons.**

- (i) Description détaillée de la méthode analytique employée (notamment données de validation de la méthode, récupération et sensibilité de la méthode) pour mesurer les résidus, ainsi qu'un exposé du choix des espèces chimiques mesurées (pesticide initial, métabolites). Lorsque la méthode a fait l'objet d'un rapport séparé inclus dans l'ensemble général des données (comme c'est souvent le cas), il suffit simplement de s'y référer. La préparation et la manipulation de l'échantillon dans toutes les étapes de la méthode doivent être décrites en détail. Les méthodes concernant les métabolites peuvent également être nécessaires.

- (ii) Les données brutes telles que les poids d'échantillons, les volumes finaux d'extraits, les hauteurs ou les surfaces de pics, doivent être communiquées pour les échantillons témoins, enrichis (notamment ceux utilisés pour obtenir des données sur la stabilité durant l'entreposage) et traités afin de confirmer les valeurs et les récupérations de résidus indiquées.
- (iii) Les instruments, l'appareillage et les réactifs utilisés doivent être identifiés, et les conditions opératoires des instruments indiquées. Dans le cas d'un protocole d'extraction et de purification complexe, un diagramme de fonctionnement est joint.
- (iv) Les données sur la récupération doivent être obtenues parallèlement aux analyses des résidus afin de valider la méthode et de déterminer sa sensibilité (limite de quantification fiable la plus basse). Le protocole expérimental de ces études de validation doit être décrit, et notamment :
  1. L'identité des composés et des substrats d'essai (tissus, lait et œufs).
  2. Les concentrations d'enrichissement ;
  3. Le nombre de répétitions par composés d'essai par concentration d'enrichissement.
- (v) Les dates d'enrichissement et d'extraction des échantillons et d'analyse des extraits sont indiquées. Si les extraits ne sont pas analysés le jour même de leur préparation, il faut décrire les conditions d'entreposage.
- (vi) Les réponses analytiques des étalons (courbes d'étalonnage) et des copies de chromatogrammes représentatifs doivent être fournis pour les échantillons témoins, enrichis et traités de chaque matrice (lait, œufs, tous les tissus comestibles, etc.) conjointement à au moins un exemple de calcul de concentration de résidu et de pourcentage de récupération à partir des données brutes. Des exemples de courbes d'étalonnage des étalons analytiques doivent également être fournis.

### Résultats et discussion.

Dans ce chapitre du rapport, les mesures réalisées sont débattues et évaluées relativement aux sujets présentés dans le chapitre "Objectif". La pertinence des résultats doit être discutée en liaison avec les utilisations proposées du produit phytosanitaire.

- (i) Les pourcentages de récupération (toutes les valeurs et pas uniquement les moyennes et les intervalles) pour le pesticide et/ou ses métabolites sont rapportés pour les tissus, le lait et les œufs enrichis par ces composés.
- (ii) Des données de stabilité durant l'entreposage relatives au comportement des résidus en fonction du temps dans les tissus, le lait et les œufs doivent être présentées ou faire l'objet d'une référence. La durée et la température d'entreposage de ces échantillons doivent être précisées.
- (iii) Il faut indiquer les concentrations du résidu concerné dans chaque tissu à chaque dose d'administration (y compris les échantillons témoins (non traités)). Il est recommandé d'inclure dans l'analyse les tissus suivants : muscle, graisse, foie et rein (ce dernier n'est pas nécessaire pour les volailles). Les valeurs individuelles sont indiquées pour chaque échantillon (et non uniquement les moyennes ou les intervalles), assorties d'une indication claire précisant si ces valeurs de résidus ont été corrigées pour tenir compte des récupérations. Si le résidu étudié est constitué de plusieurs composés, les résidus de chacun d'entre eux doivent être indiqués, dans la mesure des possibilités analytiques.

- (iv) Il faut indiquer les concentrations de résidus dans le lait et les œufs pour chaque dose ingérée, ainsi que les valeurs témoins et les dates de prélèvement des échantillons. Comme pour les concentrations de résidus dans les tissus, les valeurs pour chaque échantillon doivent être présentées, et non uniquement les intervalles et les moyennes.
- (v) La discussion doit permettre de déterminer si les données indiquent que les résidus du pesticide sont transférés aux tissus, au lait et aux œufs et, si c'est le cas, à quel moment apparaissent les plateaux dans le lait et les œufs, et si les résidus s'accumulent préférentiellement dans certains tissus. Dans le cas d'un traitement direct, la discussion doit également porter sur un délai d'abattage ou une période de sevrage approprié au tissu cible après le traitement. Elle cherchera à déterminer si les résultats concordent avec les études sur le métabolisme dans les animaux d'élevage.

### **Conclusion**

Une conclusion doit se dégager sur un éventuel transfert des résidus du pesticide provenant des produits alimentaires, d'une application directe ou d'un traitement des locaux d'élevage dans la viande, le lait et les œufs. Si ce transfert est effectif, son importance doit être débattue. Les résultats peuvent être résumés dans un tableau (le format préféré) présentant les intervalles ou les valeurs maximales de résidus dans chaque type d'échantillon pour chaque dose ingérée.

### **Rapport d'étude**

74. Le rapport d'études doit contenir les informations suivantes :
- description des animaux d'essai avec leur poids corporel, leur consommation alimentaire quotidienne, la production d'œufs ou de lait, et tous les problèmes sanitaires endurés.
  - préparation et administration de la dose d'essai, notamment concentration de la dose ou concentration de la substance d'essai appliquée, conditions d'entreposage de la dose, analyse des aliments enrichis (s'il y a lieu), méthode d'application ou d'administration, fréquence et dates d'administration ou de traitement et de sevrage, s'il y a lieu, et nombre d'animaux par groupe de dose.
  - description du prélèvement, du mélange, du regroupement et de l'entreposage des échantillons de lait et d'œufs ou, dans le cas de formulations incluses dans les aliments, des échantillons d'urine, de fèces et de liquides de lavage de cage.
  - description de l'abattage et du prélèvement des échantillons, notamment le délai intervenant entre l'administration de la dernière dose, ou la dernière application, ou l'arrêt de l'administration ou du traitement et l'abattage, les tissus collectés (poids, regroupement à partir de plusieurs animaux).
  - description de la manipulation et de l'entreposage des échantillons du prélèvement jusqu'à l'analyse.
  - description de l'extraction et de la purification des échantillons.
  - discussion de la ou des méthodes analytiques utilisées pour déterminer les résidus, notamment validation de la méthode et détermination de sa sensibilité avec des échantillons de récupération traités simultanément.

- présentation des résultats des mesures, en particulier les valeurs de récupération individuelles pour la viande, le lait, la volaille et les œufs enrichis, la stabilité durant l'entreposage des résidus en fonction du temps dans les diverses matrices animales, et les concentrations des résidus d'intérêt dans chaque tissu, le lait et les œufs à chaque dose d'administration et pendant la période de sevrage, le cas échéant, et à divers intervalles de temps pour le lait et les œufs.
- discussion des résultats, en particulier sur l'existence d'un transfert du résidu de pesticide au lait, aux œufs, aux graisses, aux muscles, au foie et/ou aux reins, sur le moment où les résidus atteignent un plateau dans le lait et les œufs, et, dans le cas d'une administration de doses ou d'un traitement direct, sur une éventuelle diminution des résidus après le sevrage, et comparaison des résultats aux études sur le métabolisme dans les animaux d'élevage.
- conclusions sur le transfert du résidu concerné à la graisse, au muscle, au rein, au foie, au lait et aux œufs en termes quantitatifs pour chaque concentration dans l'alimentation.

### **LITTERATURE**

Les documents suivants contribuent également à la conduite d'étude d'alimentation des animaux d'élevage.

- (1) OECD Guidance Document : Overview for Residue Chemistry Studies (2006)
- (2) OECD Guidance Document on the Definition of Residue (2006)
- (3) European Community (2003). The Rules Governing Medicinal Products in the European Community, Volume 8 ; Notice to Applicants and Note for Guidance : Establishment of maximum residue limits (MRLs) for residues of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin, June 2003.
- (4) Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) (1986). Directives sur les essais de pesticides pour l'obtention de données applicables aux fins d'homologation de pesticides et d'établissement de limites maximales de résidus – Etude de marquage radioactif (études de métabolisme), Rome.
- (5) Food and Agriculture Organisation of the United Nations (2002) Submission and Evaluation of Pesticide Residues Data for the Estimation of Maximum Residue Levels in Food and Feed, Rome.
- (6) European Community (1992). Conduct of Pharmacokinetic Studies in Animals, September 1992, Directive 81/852/EEC ; 7AE3a.
- (7) European Community (1993). Conduct of Bioequivalence Studies in Animals, May 1993, Directive 81/852/EEC ; 7AE4a.
- (8) Craigmill, A.L and Cortright, K.A. (2002). Interspecies Considerations in the Evaluation of Human Food Safety for Veterinary Drugs. AAPS PharmSci. 4(4), article 34.
- (9) The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (2002). Note for Guidance For the Determination of Withdrawal Periods For Milk, Committee for Veterinary Medicinal Products, Evaluation of Medicines for Veterinary Use. EMEA/CVMP/473/98-Final.

- (10) The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (2002). Note for Guidance : Approach Towards Harmonisation of Withdrawal Periods, January 1997. Committee for Veterinary Medicinal Products, Evaluation of Medicines for Veterinary Use. EMEA/CVMP/036/95/ Final.
- (11) United States Environmental Protection Agency (1996). OPPTS Test Guidelines, Series 860 : Residue Chemistry Test Guidelines.. EPA Report 712-C-96-182, Washington, D.C..  
<http://www.epa.gov/pesticides/science/guidelines.htm>
- (12) Canada. Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. Ligne directrice sur les caractéristiques chimiques des résidus de l'AMIFAC 98-02. Section 8 Viande/Volailles/Œufs.
- (13) Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization (1991). Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Food, WHO Technical Report Series 815. 38<sup>th</sup> Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva.
- (14) Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization (1995). Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Food, WHO Technical Report Series 851. 42<sup>nd</sup> Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva.
- (15) United States Food and Drug Administration, Center for Veterinary Medicine. Guideline 3. I. Guideline For Metabolism Studies And For Selection Of Residues For Toxicological Testing.  
<http://www.fda.gov/cvm/>
- (16) United States Food and Drug Administration, Center for Veterinary Medicine. Guideline 3. VI. Guideline For Establishing A Withdrawal Period.  
[www.fda.gov/cvm/guidance/guideline3pt6.html](http://www.fda.gov/cvm/guidance/guideline3pt6.html)
- (17) Food and Agriculture Organisation of the United Nations (1990). Guidelines on Producing Pesticide Residues Data from Supervised Trials ; Part 4 Metabolism Studies and Supervised Residue Trials in Animals, Rome.
- (18) Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority Veterinary Requirements Series, Part 5A, Residue Guidelines, Guideline No. 27 Ectoparasiticide Residues in Sheep Tissues.  
<http://www.apvma.gov.au/>
- (19) Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority. Veterinary Requirements Series, Part 5A, Residue Guidelines, Guideline No. 31 Residues in Poultry Tissues and Eggs.  
<http://www.apvma.gov.au/guidelines/guidln31.pdf>
- (20) Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority. Veterinary Requirements Series, Part 5A, Residue Guidelines, Guideline No. 23 Data Requirements for Animal Tissue Residue Trials.  
<http://www.apvma.gov.au/guidelines/guidln23.shtml>
- (21) European Community (2003). Guidance document Part C Livestock feeding studies (Unpublished draft 23-November 2003). Guidelines for the generation of data concerning residues as provided in Annex II part A, section 6 and Annex III, part A, section 8 of Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market : [Appendix G](#) - Livestock feeding studies, (Doc. 7031/VI/95), 22 July 1996.  
[http://europa.eu.int/comm/food/plant/protection/resources/publications\\_en.htm](http://europa.eu.int/comm/food/plant/protection/resources/publications_en.htm)