

**ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
«ДЕРЖАВНИЙ ЕКСПЕРТНИЙ ЦЕНТР
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ»**

**МЕТОДОЛОГІЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ
ДОСЛІДЖЕНЬ З ОЦІНКИ БЕЗПЕЧНОГО
ВИКОРИСТАННЯ НОВИХ РЕЧОВИН У ХАРЧОВИХ
ПРОДУКТАХ, ЩО ПРОПОНУЮТЬСЯ ДЛЯ
ВВЕДЕННЯ В ОБІГ ЯК ДІЄТИЧНІ ДОБАВКИ**

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Київ 2025

**ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
«ДЕРЖАВНИЙ ЕКСПЕРТНИЙ ЦЕНТР
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ»**

Схвалено на засіданні
Науково-експертної ради
Державного експертного центру
МОЗ України
(протокол № 26 від 23.10.2025)

**МЕТОДОЛОГІЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ З
ОЦІНКИ БЕЗПЕЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ НОВИХ
РЕЧОВИН У ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ, ЩО
ПРОПОНУЮТЬСЯ ДЛЯ ВВЕДЕННЯ В ОБІГ ЯК
ДІЄТИЧНІ ДОБАВКИ**

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Київ 2025

РОЗРОБЛЕНО: ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО «ДЕРЖАВНИЙ ЕКСПЕРТНИЙ ЦЕНТР МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ»

УКЛАДАЧІ: **Бабенко М.М.**, д-р фарм. наук;
Яворовський О.П., д-р мед. наук, академік НАМН України, проф.;
Семенченко О.І.;
Козлов М.І., канд. мед. наук;
Распутняк С.С.;
Брухно Р.П., канд. мед. наук, доц.

РЕЦЕНЗЕНТ:

ОМЕЛЬЧУК Сергій Тихонович – директор Інституту гігієни та екології НМУ імені О.О. Богомольця, професор кафедри гігієни харчування та нутриціології НМУ імені О.О. Богомольця, член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	6
УМОВНІ СКОРОЧЕННЯ	8
ТЕРМІНОЛОГІЯ	10
1. Вступ	11
2. Сфера дії	13
3. ТОКСИКОКІНЕТИКА (ADME)	17
3.1. Загальні міркування	17
3.2. Багаторівневий підхід до токсикокінетичних досліджень	19
3.2.1. Рівень 1. Дослідження абсорбції та шлунково-кишкового метаболізму <i>in vitro</i>	19
3.2.2. Рівень 2. Дослідження для визначення розподілу, метаболізму і виведення та інших основних токсикокінетичних параметрів після одноразового прийому	20
3.2.3. Рівень 3. Дослідження для визначення токсикокінетичних параметрів після повторного введення	21
4. ГЕНОТОКСИЧНІСТЬ	23
4.1. Загальні міркування	23
4.2. Багаторівневий підхід до тестування на генотоксичність	24
4.2.1. Рівень 1. Базовий набір тестів	25
4.2.2. Рівень 2. Відстеження результатів основного тесту	26
4.2.3. Рівень 3	27
5. ТОКСИЧНІСТЬ, ЩО ОХОПЛЮЄ ПІДГОСТРУ, СУБХРОНІЧНУ, ХРОНІЧНУ ТОКСИЧНІСТЬ ТА КАНЦЕРОГЕННІСТЬ	28
5.1. Загальні положення	28
5.2. Багаторівневий підхід до тестування на токсичність	31
5.2.1. Рівень 1	32
5.2.2. Рівень 2	32
5.2.3. Рівень 3	32
6. РЕПРОДУКТИВНА ТОКСИЧНІСТЬ ТА ТОКСИЧНІСТЬ ДЛЯ РОЗВИТКУ (ОНТОГЕНЕТИЧНА ТОКСИЧНІСТЬ)	34

6.1. Загальні положення	34
6.2. Багаторівневий підхід до дослідження на репродуктивну токсичність і токсичність для розвитку	35
6.2.1. Рівень 1	35
6.2.2. Рівень 2	36
6.2.3. Рівень 3	37
7. ДОДАТКОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ. ІМУНОТОКСИЧНІСТЬ, ГІПЕРЧУТЛИВІСТЬ / АЛЕРГІЯ ТА ХАРЧОВА НЕПЕРЕНОСИМІСТЬ	39
7.1. Імунотоксичність	39
7.1.1. Рівень 1	39
7.1.2. Рівень 2	40
7.1.3. Рівень 3	40
7.2. Алергія	41
7.3. Реакції непереносимості	42
7.4. Нейротоксичність	42
7.4.1. Рівень 1	42
7.4.2. Рівень 2	43
7.4.3. Рівень 3	44
Додаток А	45
Використана література	46

ПЕРЕДМОВА

Ринок дієтичних добавок в Україні невідпинно зростає. За темпами приросту даний сегмент значно випереджає інші категорії товарів «аптечного кошика» — лікарські засоби, косметику та медичні вироби. У 2025 р. питома вага дієтичних добавок порівняно із 2019 р. збільшилася з 6 до 12 % у грошовому вираженні та з 5 до 10 % в упаковках. За прогнозами, такі тенденції зберігатимуться і в подальшому, що зумовлено зростанням споживчого попиту, збільшенням чисельності торговельних марок та платформ для продажу товарів через інтернет.

При цьому, у сфері регулювання обігу дієтичних добавок відбуваються важливі зміни, які значною мірою спрямовані на підвищення безпечності застосування дієтичних добавок. Важливою складовою в урегулюванні обігу дієтичних добавок в Україні виступає впровадження у здійснення цих процесів міжнародних підходів (регламентів, керівництв та інструкцій Європейського Союзу (далі – ЄС)). Зокрема, це стосується розроблених Європейським агентством з безпечності харчових продуктів (The European Food Safety Authority) керівництв: «Guidance on the scientific requirements for an application for authorisation of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283» [Керівництво щодо наукових вимог до заявки на отримання дозволу на новий харчовий продукт у контексті Регламенту (ЄС) 2015/2283] та «Guidance for submission for food additive evaluations», 2021 [Керівництво щодо подання документів для оцінки харчових добавок, 2021].

З огляду на вищезазначене, актуальним є питання з проведення уніфікованої токсикологічної оцінки безпеки нових дієтичних добавок. Даними методичними рекомендаціями пропонується багаторівневий підхід до послідовності та об'єму токсикологічних досліджень для оцінки безпечності вітамінів, мінеральних речовин та інших речовин у харчових продуктах, що пропонуються для введення в обіг як дієтичні добавки.

Оцінка впливу харчових добавок базується на інформації про відомий або очікуваний вплив на людину запропонованої добавки або токсикологічно значущих компонентів добавки з харчових продуктів та будь-яких інших потенційних харчових джерел.

Розроблені методичні рекомендації застосовуються для проведення токсикологічних досліджень з вивчення безпеки речовин у складі нових дієтичних добавок та як підґрунтя для підготовки заявниками матеріалів. Крім того, ці методичні рекомендації слід розглядати як технічний документ для надання консультацій заявникам та компетентним уповноваженим органам та/або іншим зацікавленим особам щодо проведення токсикологічних досліджень з вивчення безпеки нових дієтичних добавок. Методичні рекомендації відображують гармонізований (у рамках ЄС) підхід та базуються на останніх наукових досягненнях у цій галузі знань.

У рамках чинного законодавства ці методичні рекомендації носять рекомендаційний характер. Дотримання яких зацікавленими сторонами (такими як заявники, власники реєстраційних посвідчень, розробники та виробники дієтичних добавок, експертні та регуляторні органи) підвищить безпеку застосування дієтичних добавок в Україні та сприятиме вдосконаленню принципів етики, зокрема, зменшенню використання лабораторних тварин, прискоренню появи на ринку нових дієтичних добавок. Однак, можуть бути застосовані альтернативні підходи за умови їх відповідного наукового обґрунтування.

УМОВНІ СКОРОЧЕННЯ

ADME	– Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion (всмоктування, розподіл, метаболізм і виведення)
AUC	– Area under the curve (площа під кривою)
B cell	– B lymphocyte (В-лімфоцит)
BMD	– Benchmark dose (еталонна доза)
BMDL	– Benchmark dose Lower (нижня межа довірчого інтервалу для еталонної дози)
EFSA	– European Food Safety Authority (Європейське агентство з безпеки харчових продуктів)
ENM	– Engineered Nanomaterials (інженерні наноматеріали)
EOGRTS	– Extended One-Generation Reproduction Toxicity study (розширене дослідження репродуктивної токсичності в одному поколінні)
LgM	– Immunoglobulin G (імуноглобулін G)
IPCS	– International Programme on Chemical Safety (міжнародна програма з хімічної безпеки)
ITS	– Integrated Testing Strategies (інтегровані стратегії тестування)
KLH	– Keyhole Limpet Hemocyanin (гемоціанін Keyhole Limpet)
MADB106	– Rat mammary adenocarcinoma derived cell line (клітинна лінія, отримана з аденокарциноми молочної залози щура)
NK	– Natural killer cell (природна клітина-кілер)
NOAEL	– No Observed Adverse Effect Level (рівень, за якого не спостерігається несприятливий ефект)
OECD	– Organisation for Economic Co-operation and Development (Організація економічного співробітництва та розвитку)
PYB6	– Mouse polyomavirus-induced tumour cell line (лінія пухлинних клітин, індукована поліомавірусом миші)

(Q)SARs	– (Quantitative) structure-activity relationships ((<i>кількісні співвідношення «структура-активність»</i>))
SAR	– Structure activity relationship (<i>взаємозв'язок між структурою та активністю</i>)
SCF	– Scientific Committee on Food (<i>науковий комітет з харчових продуктів</i>)
T cell	– T lymphocyte (<i>T-лімфоцит</i>)
TG	– Testing guideline (OECD) (<i>керівництво по тестуванню (OECD)</i>)
TTC	– Threshold of Toxicological Concern (<i>поріг токсикологічної значущості</i>)

ТЕРМІНОЛОГІЯ

Benchmark dose Lower (*нижня межа довірчого інтервалу для еталонної дози (BMDL)*). BMDL враховує невизначеність в оцінці дозової залежності, яка зумовлена характеристиками експериментального дизайну, такими як розмір вибірки. BMDL може використовуватися як опорна точка (початок) для визначення орієнтовного значення на основі здоров'я або межі впливу.

Engineered Nanomaterials (*інженерні наноматеріали*) – наноматеріал, вироблений навмисно чи ненавмисно (в результаті виробничого процесу) для використання у сфері виробництва харчових продуктів та кормів. Цей термін стосується матеріалу, розмір якого становить від 1 до 100 нм. У контексті Керівництва EFSA ENM (EFSA, 2011a) термін «спроектований» є еквівалентним терміну «вироблений» та/або «запропонований», що використовується в інших звітах.

No Observed Adverse Effect Level (*рівень, за якого не спостерігається несприятливий ефект*) – найбільша концентрація або кількість речовини, виявлена в результаті дослідження або спостереження, яка не викликає несприятливих змін морфології, функціональної здатності, росту, розвитку або тривалості життя організму, що досліджується, які відрізняються від тих, що спостерігаються у нормальних (контрольних) організмах того ж виду і штаму за тих самих визначених умов впливу.

1. ВСТУП

У методологічних рекомендаціях описуються методи, які можна використовувати для ідентифікації нових дієтичних добавок (разом з даними про виробництво та склад) та характеристики небезпек.

Для токсикологічних досліджень у цих методичних рекомендаціях описано багаторівневий підхід, який забезпечує баланс між вимогами до даних та ризиком. Багаторівневий підхід спочатку використовує менш складні дослідження для отримання даних про небезпеку; потім ці дані оцінюються, щоб визначити, чи є вони достатніми для оцінки ризику, або в іншому випадку, розробити дослідження на більш високих рівнях. Багаторівневий підхід до токсикологічних досліджень складається з 3 рівнів, для яких описано вимоги до досліджень, ключові питання та тригери. Відповідно до цього багаторівневого підходу, мінімальний набір даних, який застосовується до всіх сполук, розробляється на рівні 1, тоді як для сполук, які абсорбуються, демонструють токсичність або генотоксичність у дослідженнях рівня 1, слід провести дослідження рівня 2, щоб отримати більш розгорнуті дані. Дослідження рівня 3 слід проводити в кожному конкретному випадку з урахуванням усіх наявних даних, щоб з'ясувати конкретні кінцеві точки, які потребують подальшого вивчення результатів, отриманих під час досліджень рівня 2. Хоча на основі результатів в одному з основних напрямків може знадобитися дослідження вищого рівня, таке дослідження буде необхідним лише у відповідних основних напрямках, наприклад, якщо результати дослідження абсорбції або 90-денного дослідження вимагають подальших досліджень рівня 2, але результати дослідження рівня 1 на генотоксичність *in vitro* є негативними, то немає необхідності в проведенні дослідження рівня 2 на генотоксичність.

Зокрема, багаторівневий підхід призначений для оцінки таких основних напрямків (критеріїв безпечності дієтичних добавок): токсикокінетика, генотоксичність, токсичність (охоплює субхронічну

токсичність, хронічну токсичність і канцерогенність), а також репродуктивна токсичність і токсичність для розвитку. У кожному із цих основних критеріїв для оцінювання викладено загальні міркування та багаторівневий підхід до дослідження. На додаток до основних критеріїв для оцінки можуть знадобитися інші дослідження, які будуть доречними та корисними для оцінки ризику та встановлення безпеки добавки, включатимуть імунотоксичність, гіперчутливість та харчову непереносимість, дослідження нейротоксичності, ендокринної активності та механізмів і способів дії. У документі розглядається низка питань, пов'язаних із плануванням, проведенням та інтерпретацією всіх токсикологічних досліджень.

Заявникам рекомендується розробляти фактичні дослідження в кожному окремому випадку, беручи до уваги фізико-хімічні дані про сполуку, дані про токсичність структурно споріднених сполук і будь-яку доступну інформацію про взаємозв'язки між структурою та активністю. В основі багаторівневого підходу лежить концепція, згідно якої результати досліджень на вищих рівнях заміняють результати на нижчих рівнях. Передбачається, що під час розробки досьє заявники зможуть легше визначати потреби у відповідних даних, що дозволить адекватно оцінити ризики для людини, пов'язані з передбачуваним використанням, одночасно зміцнюючи наукову основу для оцінки. Крім того, цей підхід враховує благополуччя тварин за рахунок застосування стратегій досліджень на тваринах відповідно до принципу 3-R (заміна, вдосконалення, зменшення). Рекомендується використовувати комплексну стратегію досліджень, яка може включати альтернативні підходи, для подальшої підтримки оцінки ризиків.

2. СФЕРА ДІЇ

Метою проведення токсикологічних досліджень дієтичної добавки, що передбачається до виробництва з вмістом речовини, що оцінюється (далі – дієтична добавка) є виявлення та характеристика їх потенційної небезпеки, встановлення безпечних рівнів споживання для людини.

Токсикологічні дослідження дієтичних добавок проводяться за такими напрямками:

- токсикокінетика;
- генотоксичність;
- токсичність, що охоплює субхронічну, хронічну токсичність та канцерогенність;
- токсичність для репродуктивної функції та розвитку.

При плануванні, проведенні та інтерпретації даних токсикологічних досліджень дієтичних добавок враховуються наступні аспекти:

- Експериментальні дослідження які характеризують нову дієтичну добавку повинні проводитися установами, які мають відповідні дозвільні документи (свідоцтво про акредитацію). У разі дотримання офіційних інструкцій (наприклад, GLP, GMP, GCP та відповідних систем ISO) заявник повинен надати документи про підтвердження.
- Токсикологічні дослідження повинні проводитися із добавкою, яка відповідає запропонованим специфікаціям і виготовлена, як описано в заявці, за винятком випадків, коли існують науково-обґрунтовані причини, чому це не є доцільним.
- Доцільним при плануванні і проведенні токсикологічних досліджень є використання альтернативних методів дослідження нової методології (*in vitro*, *in silico*, *in chemico*) та фізіологічно обґрунтованого токсикокінетичного моделювання (*RBTK*). Вони дозволяють скорочувати кількість лабораторних тварин та час проведення досліджень.

- Для уникнення дублювання експериментальних досліджень оцінку токсичних властивостей дієтичних добавок доцільно проводити на підставі наукових публікацій, звітів результатів експериментальних досліджень *in vitro*, *in vivo*, QSAR-аналізу, а також за звітами і рекомендаціях міжнародних агентств та організацій.
- Гуманне поводження з експериментальними тваринами та дослідження за участю людини повинні відповідати етичним стандартам і правилам встановленим законодавством України, а за їх відсутності стандартам і правилам, які застосовуються в Європейському Союзі, щодо захисту людей і тварин, які використовуються в наукових цілях.
- Дослідження токсикокінетики та токсичності дієтичних добавок на тваринах слід проводити відповідно до міжнародних рекомендацій щодо проведення випробувань. Методи досліджень, описані в керівництвах OECD з дослідження (OECD TG), або в Регламенті Ради (ЄС) № 440/2008, що встановлює методи дослідження відповідно до Регламенту (ЄС) № 1907/2006.
- Дієтичні добавки, що досліджуються, зазвичай слід вводити пероральним шляхом. Необхідно розглянути вибір способу введення, беручи до уваги форму, в якій люди, ймовірно, споживатимуть речовину, і вплив, який це матиме на швидкість абсорбції та подальшу системну доступність. Речовини, які слід додавати до твердої їжі або додавати як до твердої їжі, так і до напоїв, як правило водяться через дієту. У разі проблем із смаковими якостями після додавання високих концентрацій до раціону слід розглянути можливість введення препарату через зонд або використання додаткових парних контрольних груп для годування. Для речовин, які призначені лише для використання в напоях, для введення можна використовувати альтернативні способи болюсного введення, наприклад через зонд.
- Для наноматеріалів (далі – ENM) методи токсикологічного дослідження можуть вимагати модифікації (наприклад, діапазон

досліджуваних органів) на основі токсикокінетичних досліджень ENM та характеристики досліджених ENM. Для наноматеріалів, які існують як дозволені дієтичні добавки у не наноформі, дослідження наноформної дієтичної добавки встановлює можливість зчитування інформації з не наноформи. Тобто, є можливість використання методу прямої аналогії між наноматеріалом і його об'ємною формою. Для нових наноматеріалів усі токсикологічні дослідження повинні включати наноспецифічну характеристику та додаткові кінцеві точки.

- Рослинні дієтичні добавки, отримані зі звичайних харчових продуктів з довгостроковим використанням, за певних обставин, коли існує достатній обсяг знань, можуть мати «припущення про безпечність», або презумпцію безпечності. Відповідно до «Керівництва з оцінки безпеки рослинних продуктів і рослинних препаратів, призначених для використання в якості інгредієнтів харчових добавок» Європейського агентства з безпечності харчових продуктів (European Food Safety Authority (EFSA)) «припущення про безпечність» застосовується до рослинних продуктів і рослинних препаратів, які використовуються як дієтичні добавки, якщо дані дозволяють зробити висновок, що вплив відомих рівнів рослинного інгредієнта відбувався у великих групах населення протягом багатьох років без повідомлень про побічні явища.
- Токсикокінетичні дослідження, які плануються до проведення багаторівневим підходом до тестування, мають реалізуватися за стратегіями, заснованими на принципах 3-R: заміні (replacement), скороченні (reduction) та вдосконаленні (refinement). Перехід від нижчого рівня досліджень до вищого спонукається відповідним причинним чинником – тригером.
- Багаторівневий підхід забезпечує баланс між обсягом і характером одержаних експериментальних даних і можливістю оцінки ризику її негативного впливу на кожному з порівневих етапів (схематичне

зображення багаторівневого підходу до токсикологічної оцінки нової дієтичної добавки представлено в додатку А).

- Характеризуючи багаторівневий підхід до токсикологічних досліджень, слід відзначити, що він складається з 3 рівнів, для яких описані вимоги до дослідження, ключові питання і тригери.
- Зазвичай експериментальні токсикологічні дослідження проводяться *in vitro* та з використанням лабораторних тварин *in vivo*.

3. ТОКСИКОКІНЕТИКА (ADME)

3.1. Загальні міркування

Дані щодо абсорбції, розподілу, метаболізму та виведення у людей і тварин є необхідним як для харчової, так і для токсикологічної оцінки нової дієтичної добавки. Дослідження ADME інформують про ступінь поглинання нової їжі і її компонентів зі шлунково-кишкового тракту (ШКТ), характер і ступінь метаболізму, елімінації та властивості біонакопичення. Відмінності в ADME між тваринами та людьми можуть вплинути на адекватність та інтерпретацію експериментальних досліджень на тваринах.

Інформація про ADME або спеціальні дослідження ADME необхідна для нових харчових продуктів, що складаються з нових окремих речовин. У випадках, коли дієтичні добавки є сумішшю, необхідно дослідити ADME токсикологічно значущих компонентів. Якщо у випадку простих хімічних сумішей очікується хімічна або фізична взаємодія, яка може змінити властивості окремих компонентів або їх поведінку в організмі, слід оцінити вплив сумішей на біодоступність.

У деяких випадках дослідження ADME можуть не знадобитися, коли нова їжа складається з речовин, як описано, зазвичай зустрічаються в організмі або в раціоні. Якщо новий харчовий продукт складається з полімерів > 100 Да і якщо надано докази того, що вони не розкладаються в шлунково-кишковому тракті до фрагментів <1000 Да. Дослідження ADME також є необхідним стосовно нових харчових продуктів, які містять або складаються з «сконструйованих наноматеріалів». Заявники повинні враховувати особливі вимоги та дотримуватися підходу, вкладеного в інструкції Наукового комітету EFSA, щодо оцінки ризику наноматеріалів, які будуть застосовуватися в харчовому та кормовому ланцюгах (зокрема, розділи про дослідження на деградацію *in vitro* та дослідження ADME) (Науковий комітет EFSA, 2021b: Розділи 7.2.).

Токсикокінетичні дані можуть бути отримані з набору досліджень *in silico*, *in vitro* та *in vivo* при введенні одноразової та повторної дози. Для визначення токсикокінетичних параметрів можуть знадобитися дослідження на тваринах із застосуванням одноразового або багаторазового введення.

Системний вплив вихідної сполуки або метаболітів оцінюється шляхом вимірювання концентрацій у плазмі (або в цільній крові чи сироватці), визначення метаболітів у сечі, а в деяких випадках можуть вимірюватися концентрації в тканинах. Зазвичай вимірюють такі параметри, як площа під кривою (AUC) залежність концентрації сполуки в плазмі від часу після перорального прийому; максимальна концентрація ($C_{\max}$); час досягнення максимальної концентрації ($T_{\max}$); період напіввиведення ($T_{1/2}$). Оцінка системної доступності вимагає порівняння результатів після перорального застосування з результатами, отриманими при внутрішньовенному введенні. Зокрема, оцінка системної експозиції значно полегшує інтерпретацію залежності «доза-відповідь», яка є нелінійною через індукцію, зміну або насичення процесів, що беруть участь в ADME (абсорбції, розподілі, метаболізмі і виділенні) сполуки. Крім того, токсикокінетична інформація використовується для визначення відсутності токсикологічної реакції, яка не пов'язана з відсутністю системної експозиції.

Дослідження *in vitro* з використанням білків, білків-носіїв, ферментів, субклітинних фракцій, клітинних культур і перфузованих органів також можуть надати корисну інформацію для вивчення абсорбції, розподілу та метаболізму, з'ясування механізмів токсичності, впливу на ферменти та інших специфічних аспектів. Такі дослідження *in vitro* можуть бути особливо корисними для визначення можливих видових відмінностей.

Для речовин з обмеженою системною доступністю в межах дослідження розподілу та метаболізму можуть використовуватись сполуки мічені радіоактивними ізотопами.

Для деяких харчових добавок, таких як складні суміші, звичайні дослідження метаболізму та токсикокінетики можуть бути неможливими для

всіх компонентів у суміші, але їх слід надати для токсикологічно значущих складових. Токсикологічно значущі складові, як правило, вважаються основними компонентами та іншими компонентами з відомою або доведеною біологічною або токсикологічною активністю, і їх слід визначати в кожному окремому випадку з науковим обґрунтуванням і обґрунтуванням їх вибору.

У деяких випадках, коли вважається, що матричний ефект впливає на безпеку певних рівнів речовин, впливаючи на їхні токсикокінетичні параметри, необхідно надати відповідне тестування та/або інші дані, щоб продемонструвати наявність матричного ефекту препарату та його вплив на токсикокінетику. Матричний ефект слід оцінювати в кожному конкретному випадку.

3.2. Багаторівневий підхід до токсикокінетичних досліджень

3.2.1. Рівень 1. Дослідження абсорбції та шлунково-кишкового метаболізму *in vitro*

Метою токсикокінетичного дослідження рівня 1 є визначення того, чи всмоктується сполука або продукти її метаболізму / біотрансформації з шлунково-кишкового тракту. Існує низка встановлених моделей для дослідження абсорбції (зокрема моделі *in vitro*, *in vivo* та *ex vivo* – моделі абсорбції та біодоступності). Фізико-хімічними факторами, що впливають на всмоктування, є молекулярна маса, константа іонізації, гідро- та ліпофільність. Демонстрація незначної абсорбції, отримана за допомогою експериментальних досліджень або теоретичних положень, слугує науковим обґрунтуванням для відмови від проведення токсикологічних досліджень дієтичної добавки на більш високому рівні. Необхідна чутливість для визначення незначного рівня абсорбції, як правило, вимагає проведення

досліджень *in vivo* з використанням мічених сполук. Загалом, існує потреба в оцінці кожного конкретного випадку при визначенні незначної абсорбції.

Необхідно дослідити стабільність сполуки в шлунково-кишковому тракті, щоб переконатися, що вона не розпадається і не метаболізується до компонентів, які можуть бути абсорбовані. Використання моделей метаболізму у шлунково-кишковому тракті *in vitro*, включаючи кишкову флору, допомагає в цій оцінці.

При оцінці незначного поглинання слід враховувати фізико-хімічні параметри, дизайн дослідження та інші параметри. Фізико-хімічні параметри включають: хімічну структуру, молекулярну масу, коефіцієнт розподілу октанолу у воді, розчинність у воді, молекулярну форму, константи заряду та дисоціації.

Параметри дизайну дослідження включають відсоток поглинання, надійність дизайну та продуктивності дослідження, чутливість і специфічність методів виявлення, межі виявлення, кількість у фекаліях та облік дози. Інші параметри включають ймовірність збереження в тканинах, прогнозовану метаболічну стабільність і результати досліджень рівня 1.

Якщо буде доведено незначне всмоктування речовини, її залишків та продуктів розпаду у кишківнику (наприклад, мікрофлори або хімічних речовин), приймається рішення провести обмежену кількість досліджень токсичності. У разі абсорбції сполуки, її метаболітів або продуктів розпаду (наприклад, мікрофлори чи хімічних речовин) із шлунково-кишкового тракту слід провести токсикокінетичні дослідження рівня 2.

3.2.2. Рівень 2. Дослідження для визначення розподілу, метаболізму і виведення та інших основних токсикокінетичних параметрів після одноразового прийому

Для деяких речовин (наприклад, високомолекулярних полімерів і сумішей), коли відбувається абсорбція низькомолекулярних інгредієнтів,

дослідження рівня 2 (як у токсикокінетиці, так і у інших кінцевих точках) цих інгредієнтів можуть бути більш релевантними та інформативними для оцінки ризику, ніж такі дослідження самої дієтичної добавки.

Оцінка токсикокінетики в дослідженнях *in vivo*.

Токсикокінетичні дослідження рівня 2 (OECD TG 417) повинні надавати дані про системний вплив сполуки та визначення основних токсикокінетичних параметрів одноразової дози ($T_{1/2}$, AUC, біодоступність, $C_{\max}$ і $T_{\max}$) разом з оцінкою *in vivo* її абсорбції, розподілу, метаболізму та екскреції, зокрема ідентифікацію та кількісне визначення метаболітів. Часто бажано мати параметри, визначені в діапазоні кількох рівнів доз, щоб перевірити лінійність кінетичних параметрів і можливе насичення цих параметрів.

Оцінка валідності обраної моделі на тваринах вимагає порівняльних досліджень метаболізму *in vitro* з використанням відповідних ферментів тварин і людини, субклітинних фракцій та/або клітин.

3.2.3. Рівень 3. Дослідження для визначення токсикокінетичних параметрів після повторного введення

Тригером для запиту на дослідження рівня 3 буде обмежене або повільне виділення, або будь-який інший механізм, який лежить в основі можливої біоаккумуляції. У цих випадках для розширення доступної бази даних слід розглянути наступні дані:

- Токсикокінетичні дослідження рівня 3 із застосуванням повторних доз на експериментальних тваринах, зазвичай, це дослідження до стабільного стану, що становить приблизно п'ять кінцевих періодів напіввиведення речовини.
- Додаткові дані, що допомагають передбачити поглинання, розподіл, метаболізм і виведення сполуки в організмі людини.

- Кінетичні дані, отримані у ході досліджень на добровольцях.
Дослідження слід проводити в індивідуальному порядку.

Дані про відмінності у токсикокінетиці зумовлені віком, фізіологічним станом, станом захворювання тощо можуть вимагати розгляду спеціальних токсикокінетичних досліджень для уточнення оцінки ризику.

4. ГЕНОТОКСИЧНІСТЬ

4.1. Загальні міркування

Під генотоксичністю розуміють здатність речовин або факторів викликати пошкодження клітинного генетичного матеріалу (ДНК), порушувати його цілісність та функціональний стан. Генотоксичні речовини потенційно мутагенні або канцерогенні, зокрема, здатні привести до генетичної мутації або до розвитку пухлини. ДНК-ушкоджуюча дія в основному реалізується завдяки активації вільно-радикальних реакцій перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Зазвичай, під визначенням генотоксичності речовин мають на увазі мутагенну дію, хоча ДНК-ушкоджуюча дія не завжди реалізується через мутагенний ефект. Генетичні зміни в соматичних та статевих клітинах призводять до різноманітних генетичних, соматичних, спадкових захворювань та порушень генеративної функції.

Дослідження на генотоксичність проводиться з наступними цілями:

- виявити речовини, які можуть спричинити спадкові захворювання у людей;
- передбачити потенційні генотоксичні канцерогени у випадках, коли дані про канцерогенність відсутні;
- сприяти розумінню механізму дії хімічних канцерогенів.

Для адекватної оцінки генотоксичного потенціалу хімічної речовини необхідно оцінити різні кінцеві точки (тобто індукцію генних мутацій, структурні та чисельні хромосомні зміни), оскільки кожна з цих подій була причетна до канцерогенезу та спадкових захворювань.

Генотоксичний потенціал будь-якої нової добавки повинен бути оцінений як частина процесу оцінки. Рекомендації щодо тестування на генотоксичність у цьому технічному посібнику базуються на науковій думці щодо стратегій тестування на генотоксичність (EFSA, 2011d).

Рекомендується поетапний (багаторівневий) підхід для отримання та оцінки даних про генотоксичний потенціал, що включає:

- базову батарею тестів *in vitro*, спрямованих на виявлення генотоксичного потенціалу речовини, що оцінює індукцію генної мутації, структурних (кластогенність) і кількісних (анеуплоїдія) хромосомних змін,
- розгляд питання про те, чи можуть специфічні характеристики досліджуваної речовини вимагати заміни одного або кількох рекомендованих тестів *in vitro* іншими тестами *in vitro* або *in vivo* в базовій батареї;
- у разі отримання позитивних результатів базового набору тестів, перегляд усіх доступних даних про генотоксичність досліджуваної речовини, а також, у разі необхідності, проведення відповідного дослідження (або досліджень) *in vivo*, щоб оцінити, чи генотоксичний потенціал, який спостерігається *in vitro*, виявляється *in vivo*.

Перш ніж приступати до будь-якого тестування, для належного проведення тестів важливо врахувати інші відповідні знання про речовину. Допоміжну інформацію також можна отримати з даних взаємозв'язку між структурою та активністю (SAR) і даних «перехресного читання» між структурно спорідненими речовинами. Ця інформація також може бути важливою для інтерпретації результатів тестування на генотоксичність і особливо важливою для вибору будь-якого дослідження *in vivo*.

У рідкісних випадках можуть бути наукові підстави (наприклад, недостатня метаболічна активація *in vitro*, залучення специфічних умов, таких як реакції в шлунково-кишковому тракті або структурна подібність з відомими мутагенами/канцерогенами) для вимоги тестування *in vivo* навіть у разі негативних результатів *in vitro*.

4.2. Багаторівневий підхід до тестування на генотоксичність

4.2.1. Рівень 1. Базовий набір тестів

На першому етапі дослідження генотоксичності проводяться такі тести *in vitro*:

- тест на бактеріальну зворотну мутацію (OECD TG 471);
- мікроядерний тест *in vitro* (OECD TG 487).

Ця комбінація тестів відповідає основним вимогам щодо охоплення трьох генетичних кінцевих точок з мінімальною кількістю тестів; тест на бактеріальну зворотну мутацію охоплює генні мутації, а мікроядерний тест *in vitro* охоплює як структурні, так і кількісні хромосомні аберації. Додавання будь-яких додаткових тестів *in vitro* на клітинах ссавців до базової батареї значно знизить специфічність без значного підвищення чутливості (EFSA, 2011d).

У разі отримання позитивних результатів базового набору тестів, може бути доцільним проведення подальшого тестування *in vitro* для оптимізації будь-яких наступних тестів *in vivo* або для отримання додаткової корисної інформації про механізм дії.

Можуть бути обставини, за яких відхилення від вищезгаданих тестів може бути виправданим. У таких випадках слід надати наукове обґрунтування.

Якщо для досліджуваної речовини є вказівки на те, що в стандартних системах *in vitro* відсутні певні метаболічні шляхи, або відомо, що система тестування *in vitro* не підходить для цієї речовини чи механізму її дії, тестування може вимагати відповідної модифікації тестів *in vitro* або використання тесту *in vivo* на ранній стадії тестування. Може бути корисним включити оцінку генотоксичності *in vivo* на ранній стадії та включити таке тестування в інші дослідження токсичності повторних доз, які будуть проводитися в будь-якому випадку, особливо коли досліджувана речовина може бути дозована до граничної дози, яка буде застосована в окреме дослідження генотоксичності *in vivo*.

У випадках, коли всі кінцеві точки *in vitro* є чітко негативними у тестах, проведених належним чином, можна зробити висновок, що речовина не є генотоксичною.

У разі не переконливих, суперечливих або сумнівних результатів тестування *in vitro* доцільно продовжити тестування *in vitro* або шляхом повторення вже проведеного дослідження, наприклад, за інших умов, або шляхом проведення іншого тесту *in vitro*, щоб спробувати вирішити ситуацію.

4.2.2. Рівень 2. Відстеження результатів основного тесту

Перш ніж приступати до будь-якого необхідного спостереження за позитивними результатами *in vitro* за допомогою тестування *in vivo*, слід переглянути не лише результати тестування *in vitro*, але й інші відповідні дані про речовину, такі як інформація про хімічну реакційну здатність речовини (які можуть сприяти впливу на місце контакту), біодоступність, метаболізм, токсикокінетика та будь-яка специфічність органу-мішені.

Якщо після такого перегляду приймається рішення про необхідність тестування *in vivo*, тести слід обирати в кожному конкретному випадку з використанням експертної оцінки, з гнучкістю у виборі тесту, керуючись повним набором даних, доступних для речовини.

Підхід до тестування *in vivo* є поетапним. Якщо перший тест позитивний, наступний тест не потрібен, і речовина буде вважатися генотоксичною *in vivo*. Якщо тест негативний, речовина не є генотоксичною *in vivo*. Однак у деяких випадках виникає потреба у проведенні другого тесту *in vivo*, оскільки існують ситуації, коли більше ніж одна кінцева точка в тестах *in vitro* є позитивною і може бути необхідним проведення тесту *in vivo* на другій кінцевій точці, якщо перший тест є негативним. Також може бути необхідним проведення додаткового дослідження *in vivo* на альтернативній тканині, якщо, наприклад, стає очевидним, що речовина не досягла цільової

тканини в першому дослідженні. Слід розглянути можливість поєднання оцінки різних кінцевих точок в різних тканинах у однієї і тієї ж тварини *in vivo*.

Для проведення досліджень *in vivo* придатними є такі тести:

- мікроядерний тест *in vivo* (OECD TG 474);
- тест *in vivo Comet assay*;
- тест на трансгенних гризунах (OECD TG 488).

Мікроядерний тест *in vivo* охоплює кінцеві точки структурних і чисельних хромосомних аберацій і є відповідним продовженням кластогенів і анеугенів *in vitro*.

Тест *in vivo Comet* вважається корисним індикаторним тестом з точки зору його чутливості до речовин, які викликають генні мутації та/або структурні хромосомні аберації *in vitro*, і може проводитися з багатьма тканинами. Тести на трансгенних гризунах дозволяють виявити точкові мутації та невеликі делеції, не мають обмежень щодо тканин.

Зазвичай, якщо результати відповідних і належним чином проведених тестів *in vivo* є негативними, можна зробити висновок, що речовина не є генотоксичною *in vivo*. Якщо результати тесту(ів) *in vivo* є позитивними, можна зробити висновок, що речовина є генотоксичною *in vivo*.

4.2.3. Рівень 3

Якщо нова речовина дає позитивні результати тестів на генотоксичність *in vivo*, подальше тестування не потрібне, і речовину слід вважати генотоксичною *in vivo*.

5. ТОКСИЧНІСТЬ, ЩО ОХОПЛЮЄ ПІДГОСТРУ, СУБХРОНІЧНУ, ХРОНІЧНУ ТОКСИЧНІСТЬ ТА КАНЦЕРОГЕННІСТЬ

5.1. Загальні положення

Перед плануванням і проведенням токсикологічних досліджень заявники повинні розглянути дані про склад нового харчового продукту. Крім того, слід провести комплексний огляд літератури щодо токсикологічних властивостей нової їжі та/або її відповідних компонентів. Необхідно ретельно розглянути всі відповідні наявні знання щодо нового харчового продукту, щоб визначити потребу в дослідженнях токсичності, і обґрунтуванні відповідної стратегії токсикологічного тестування.

Важливі елементи, які слід враховувати для стратегії токсикологічного тестування, включають:

- джерело, процес виробництва, ідентичність і склад нової їжі (нової дієтичної добавки),
- доступна інформація ADME,
- доступна токсикологічна інформація (дослідження *in silico*, *in vitro*, *in vivo*) про новий харчовий продукт, його складові (включаючи поживні речовини) або його метаболіти,
- доступні дослідження на людях,
- доступна відповідна інформація та оцінки безпеки від використання речовини в харчових цілях (наприклад, хімікати, фармацевтичні препарати, косметика).

Якщо, незважаючи на повну характеристику та огляд літератури, залишаються потенційні прогалини в даних для ідентифікації небезпеки нового харчового продукту, необхідно провести відповідні токсикологічні дослідження з метою заповнення прогалин.

Токсикологічні дослідження, що проводяться з новою їжею, повинні проводитися відповідно до міжнародних рекомендацій (наприклад, OECD) і

відповідно до принципів OECD GLP (Організація економічного співробітництва та розвитку, принципи належної лабораторної практики (ОСЕР, 1997); Регламент Комісії (ЄС) 2017/2469.

Для оцінки безпеки наноматеріалів необхідно враховувати додаткові вимоги, детально викладені в Посібнику з оцінки ризику наноматеріалів, що застосовуються в харчовому та кормовому ланцюгах: здоров'я людей і тварин (Науковий комітет EFSA, 2021b).

Токсикологічні дані про структурно споріднені речовини та їхні метаболічні профілі можуть бути розглянуті для застосування з новим підходом перехресного зчитування або використання методу прямих аналогів.

Підхід до порогу токсикологічної значущості (ТТС) може бути корисним при оцінці ризику речовин при низьких рівнях впливу (таких як домішки, метаболіти та продукти розпаду для яких немає даних про токсичність. Рекомендується ознайомитися з Посібником EFSA щодо використання підходу ТТС в оцінці безпеки харчових продуктів (Науковий комітет EFSA, 2019b).

Дослідження субхронічної токсичності встановлюють основний токсикологічний профіль речовини, надають інформацію про органи-мішені та тканини, на які вона впливає (ідентифікація небезпеки), про характер та тяжкість будь-яких ефектів, а також про залежність доза-відповідь (характеристика небезпеки). Вони повинні давати змогу визначити відповідну межу контрольної дози (BMDL) за допомогою аналізу BMD або дози, при якій побічні реакції, виявлені при вищих рівнях дози, більше не спостерігаються, тобто NOAEL (EFSA, 2009a).

Дослідження субхронічної токсичності використовується для оцінки відповідних рівнів доз для досліджень хронічної токсичності і може вказати на потребу в додаткових дослідженнях конкретних ефектів, таких як нейротоксичні або імунологічні ефекти.

Субхронічна токсичність зазвичай досліджується лише на одному виді, як правило, на щурах, хоча, можуть бути використані й інші види, як альтернативно так і додатково. Вибір виду повинен бути науково обґрунтованим, наприклад метаболічними відмінностями. Однак, якщо є докази того, що існують токсикокінетичні відмінності, які ставлять під сумнів релевантність обраної тваринної моделі щодо ситуації з людиною, тестування слід проводити на іншому, адекватному виді.

Для досліджень субхронічної та хронічної токсичності та для досліджень канцерогенності зазвичай слід обирати максимальну дозу, щоб визначити основні органи-мішені та токсичні ефекти, мінімізуючи при цьому страждання, тяжкі прояви токсичності, захворюваність або смертність лабораторних тварин.

У рамках рівня 1 дослідження субхронічної токсичності, як правило, має проводитися протягом щонайменше 90 днів (OECD TG 408) на гризунах. 90-денне дослідження дозволяє ідентифікувати хімічні речовини, які можуть спричиняти нейротоксичні, імунологічні, репродуктивні або ендокринні ефекти, що вимагають подальшого поглибленого дослідження. Раніше проведені дослідження з визначення діапазону доз, проведені протягом коротших періодів, можуть надати інформацію про органи-мішені та допомогти у виборі відповідних доз для 90-денних досліджень.

Хронічну токсичність дієтичної добавки оцінюють в окремому дослідженні. (OECD TG 452). Часто використовують комбінований протокол для вивчення хронічної токсичності та канцерогенності в одному експерименті (OECD TG 453). Комбіноване дослідження забезпечує більшу ефективність з урахуванням часу та витрат у порівнянні з проведенням двох окремих досліджень, не погіршуючи якості даних ні в хронічній фазі, ні в фазі канцерогенності. Однак при проведенні комбінованого дослідження хронічної токсичності та канцерогенності (OECD TG 453) слід ретельно розглянути принципи вибору дози. При проведенні такого комбінованого дослідження в його дизайн зазвичай включають достатню кількість супутніх

тварин, щоб оцінити прояви хронічної токсичності дослідження, без шкоди для частини дослідження, присвяченій канцерогенності.

Дослідження хронічної токсичності зазвичай проводяться на щурах протягом 12-місячного періоду. Дослідження канцерогенності повинні охоплювати більшу частину тривалості життя тварин, як правило, 24 місяці у щурів і 18 або 24 місяці у мишей (OECD TG 453). Дослідження канцерогенності не вимагають внутрішньоутробного впливу, якщо тільки конкретні міркування не вказують на протилежне.

Інформація, отримана в результаті цих досліджень, повинна включати гістопатологічні дослідження та клінічні спостереження, включаючи офтальмологію, вимірювання маси тіла, обсягами споживання їжі/води та ефективність харчування, що проводяться з відповідними інтервалами, як зазначено в Керівних принципах OECD щодо проведення досліджень. Щодо добавок, для яких раніше проведені дослідження на підгостру або субхронічну токсичність показали потенційну здатність викликати нейрофункціональні або нейроповедінкові ефекти, слід провести додаткові дослідження таких ефектів з використанням відповідної методології. Мікроскопічне дослідження повинно охоплювати всі органи і тканини організму.

Дослідження канцерогенності та хронічної токсичності зазвичай проводиться на одному виді тварин – щурах. Тоді як окреме, специфічне, тестування на канцерогенність дієтичних добавок проводиться на двох видах тварин – щурах і мишах (SCF 2001).

Оцінку канцерогенності слід проводити лише після отримання початкової інформації про токсичність у результаті 90-денних та/або більш тривалих досліджень токсичності. У разі виявлення канцерогенної дії у ході досліджень зазвичай необхідна додаткова інформація щодо механізму дії та достовірні дані про токсикокінетику для оцінки ризику при екстраполяції за участю людини, а також, можливого визначення порогу для негенотоксичних канцерогенів.

5.2. Багаторівневий підхід до тестування на токсичність

5.2.1. Рівень 1

Дослідження токсичності складається з модифікованого 90-денного тесту на токсичність (OECD TG 408 з розширеними параметрами з OECD 407), який повинен дозволити ідентифікувати хімічні речовини, що можуть потенційно спричинити нейротоксичні, імунологічні ефекти або ефекти, пов'язані з репродуктивною або ендокринною системами, що вимагає подальшого поглибленого дослідження на більш високих рівнях. Результати 90-денного дослідження пероральної токсичності повторних доз використовуються для визначення гранично допустимої концентрації (BMDL) або рівня, при якому не спостерігається несприятливий ефект (NOAEL).

У випадку дієтичних добавок, для яких тестування рівня 1 токсикокінетики вказує на відсутність системної доступності, дослідження рівня 1 повинні бути спрямовані на виявлення як патологічних, так і фізіологічних ефектів в шлунково-кишковому тракті. При цьому, слід також дослідити вплив неабсорбованих речовин на функцію шлунково-кишкового тракту та толерантність.

5.2.2. Рівень 2.

Дослідження хронічної токсичності (12 місяців) і канцерогенності проводиться на одному виді тварин, зокрема, на щурах. Проводяться як окремі дослідження (OECD TG 452 і 451) так і комбіновані дослідження (OECD TG 453). Дослідження канцерогенності на другому виді тварин може бути ініційоване за результатами для кращих видів при неоднозначних результатах або специфічних для виду висновках або за результатами

спостереження в рамках спеціалізованих досліджень з вивчення механізму токсичності чи канцерогенності, що спостерігалася.

5.2.3. Рівень 3.

На даний час розроблено кілька альтернативних моделей, зокрема короткострокові дослідження з використанням моделей трансгенних мишей (p53+/-, rasH2, Tg.AC, Хра-/- та Хра-/-p53+/-) для доповнення або вдосконалення класичного біологічного тесту на канцерогенність, які можуть надати відповідну інформацію на рівні 3.

Рівень 3 також включає спеціалізоване дослідження на нейротоксичність, імунотоксичність або ефекти, пов'язані з ендокринною системою.

6. РЕПРОДУКТИВНА ТОКСИЧНІСТЬ ТА ТОКСИЧНІСТЬ ДЛЯ РОЗВИТКУ (ОНТОГЕНЕТИЧНА ТОКСИЧНІСТЬ)

6.1. Загальні положення

Дієтичні добавки, що виявляють системну доступність, повинні бути перевірені в дослідженнях репродуктивної токсичності та токсичності для розвитку. Метою дослідження репродуктивної токсичності є надання інформації про вплив та ефективність дієтичних добавок на лібідо у самців та самиць, фертильність, здатність самиць зберегти вагітність до терміну, лактацію та догляд за молодняком, пренатальне та постнатальне виживання, ріст, функціональний та поведінковий розвиток потомства, репродуктивну здатність потомства, а також для гістологічної ідентифікації основних органів-мішеней токсичності (включаючи репродуктивні органи) у батьків та потомства. Основною метою дослідження токсичності для внутрішньоутробного розвитку є виявлення потенціалу речовини спричиняти летальні, тератогенні або інші токсичні ефекти на ембріон і плід шляхом дослідження резорбції або загибелі ембріона і плода, ембріональної та фетальної резорбції або смерті, маси плода, статевого співвідношення, вісцеральні та скелетні вади розвитку. Дослідження повинні також включати оцінку потенційного впливу дієтичної добавки, що надходить в організм плода через материнський організм та після народження через материнське молоко, також може негативно вплинути на післяпологовий розвиток і функціонування організму, включаючи нервову систему та поведінку, імунну систему та ендокринну діяльність.

Рішення про необхідність проведення досліджень на репродуктивну токсичність і токсичність для розвитку, слід приймати з урахуванням наявних даних про токсичність та інформацію про токсикокінетику речовини. Для прийняття рішення про необхідність проведення дослідження токсичності для розвитку, також слід розглянути проникність речовини через

плаценту. Така інформація може бути недоступною, оскільки дослідження ADME зазвичай не проводяться на вагітних тваринах.

6.2. Багаторівневий підхід до дослідження на репродуктивну токсичність і токсичність для розвитку

6.2.1. Рівень 1.

Дані досліджень на субхронічну токсичність рівня 1 є релевантними при розгляді необхідності дослідження репродуктивної функції та розвитку на рівні 2.

Дослідження токсичності при багаторазовому пероральному введенні протягом 90 днів (OECD TG 408) надає лише обмежену інформацію про репродуктивну токсичність і не надає інформації про токсичність для розвитку; воно може надати інформацію про вплив на репродуктивні органи та, у разі оцінки, на естральний цикл, але не оцінює фертильність та весь репродуктивний цикл, починаючи з внутрішньоутробного впливу, через статеву зрілість до зачаття, вагітності, пренатального та постнатального розвитку.

Рішення про необхідність проведення досліджень на репродуктивну токсичність і токсичність для розвитку повинні прийматися з урахуванням наявних даних про токсичність і доступної інформації про токсикокінетику. Якщо токсикокінетичне дослідження рівня 1 показує, що досліджувана речовина системно доступна для досліджуваних видів (зазвичай гризунів) або є підозра, що вона системно доступна для людей, необхідно провести дослідження рівня 2 на репродуктивну токсичність і токсичність для розвитку. Ознаки впливу на репродуктивні органи або параметри 90-денної пероральної токсичності також призведуть до тестування рівня 2 на репродуктивну токсичність і токсичність для розвитку.

Якщо біодоступність незначна, тестування рівня 2 для досліджень репродуктивної токсичності та токсичності для розвитку проводити не потрібно.

6.2.2. Рівень 2.

Тестування рівня 2 на репродуктивну токсичність і токсичність для розвитку включає дослідження пренатальної токсичності для розвитку (OECD TG 414) на кроликах і розширене дослідження репродуктивної токсичності в одному поколінні (EOGRTS) (OECD TG 443). Групи для попередньої оцінки додаткових більш конкретних кінцевих точок слід регулярно включати в EOGRTS для досліджень дієтичних добавок.

У EOGRTS досліджувану речовину зазвичай слід вводити з кормом або перорально за допомогою зонда як статевозрілим самцям, так і самицям, протягом визначеного періоду перед спаровуванням (мінімум 2 тижні) і 2-тижневого періоду спаровування, при цьому самці-батьки повинні отримувати речовину до відлучення потомства F1, протягом мінімум 10 тижнів, і самиці-матері протягом вагітності та лактації до відлучення потомства F1. Дозування потомства F1 слід починати з відлучення і продовжувати до запланованого розтину у дорослому віці. Дослідження проводяться лише на одному лабораторному виді, переважно на гризунах, причому щури є видом, що має перевагу за умови, що було ретельно розглянуто всю іншу доступну інформацію. Однак, на підставі іншої доступної інформації, можна використовувати альтернативні види за умови, що заявник надасть обґрунтування.

EOGRTS (OECD TG 443) на щурах дозволить отримати інформацію для оцінки конкретних етапів життя, які не охоплюються іншими дослідженнями токсичності; буде оцінено фертильність і репродуктивну функцію, а також коротко- і довгострокові наслідки впливу на розвиток під час вагітності, лактації та препубертатного періоду, а також вплив на

молодняк і доросле потомство, шляхом ефективної інтеграції декількох кінцевих точок, що охоплюють весь репродуктивний цикл (від гаметогенезу до дозрівання наступного покоління), а також попередньої оцінки додаткових більш специфічних кінцевих точок (тобто розвиток нейротоксичності та розвиток імунотоксичності). Згідно з рекомендаціями ОЕСР (TG 443), вибрані параметри, що підлягають вимірюванню, належать до наступних категорій:

- репродуктивні кінцеві точки;
- кінцеві точки розвитку (до- та постнатальні);
- специфічні кінцеві точки (нейротоксичність розвитку, імунотоксичність та ендокринні порушення) і зосередженість на фізичному, функціональному та поведінковому розвитку тварин, які піддавалися впливу від початку ембріогенезу до дорослого віку.

Відповідні спостереження, як правило, включають масу тіла потомства, показники фізичного та функціонального розвитку до відлучення, зокрема розвиток рефлексів, настання статевої зрілості, що визначається вагінальним відкриттям у самок і розщепленням баланопопрепуціальної залози у самців, сенсорну та рухову функцію, а також деякі ознаки когнітивних здібностей (навчання та пам'ять).

Протокол EOGRTS включає кінцеві точки, які називаються «тригерами» (наприклад, фертильність Р, оцінка естрального циклу F1, параметри потомства та етапи розвитку F1, постнатальна виживаність потомства та вади розвитку, індекс живонародженості та маса тіла F1), які можуть бути використані для визначення необхідності оцінки другого покоління (F2). Якщо ці тригери є позитивними, EOGRTS може бути розширено для включення покоління F2, що може допомогти прояснити будь-які неоднозначні результати або надати додаткову характеристику фертильності в спарюванні F1.

6.2.3. Рівень 3.

При розробці відповідного дослідження рівня 3 слід застосовувати індивідуальний підхід, ретельно враховуючи питання добробуту тварин та всі доступні дані. Випробування рівня 3 проводиться за результатами досліджень рівня 2 і може включати додаткові дослідження, наприклад, ендокринної та нейротоксичності розвитку (OECD TG 426), а також дослідження механізму дії, які можуть включати як дослідження за керівними принципами, так і експериментальні дослідження, розроблені для кожного конкретного випадку.

7. ДОДАТКОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ. ІМУНОТОКСИЧНІСТЬ, ГІПЕРЧУТЛИВІСТЬ / АЛЕРГІЯ ТА ХАРЧОВА НЕПЕРЕНОСИМІСТЬ

Окрім основних напрямків (критеріїв безпечності дієтичних добавок), для проведення адекватної оцінки ризику можуть бути необхідні інші дослідження. Ці дослідження, як правило, вивчають конкретні біологічні процеси, які можуть не враховуватися в повній мірі в основних напрямках оцінки. Інші дослідження, які можуть бути актуальними та корисними для оцінки ризику та встановлення безпеки добавки, включають імунотоксичність, гіперчутливість та непереносимість харчових продуктів, дослідження нейротоксичності, ендокринної активності, а також механізмів і способів дії.

7.1. Імунотоксичність

Попередні експериментальні дані, що вказують про вплив на імунну систему, можуть бути отримані в результаті дослідження рівня 1 і рівня 2 для визначення (суб)хронічної токсичності, що може спричинити проведення подальших досліджень рівня 3 з метою вивчення імунотоксичності.

7.1.1. Рівень 1

Багаторівневий підхід до дослідження включає на рівні 1 90-денне дослідження на щурах (OECD TG 408). Це дослідження передбачає вивчення впливу дієтичної добавки на ряд параметрів, які можуть свідчити про імунотоксичний або імуномодуючий ефект. До них належать: зміни маси селезінки та тимуса відносно маси тіла за відсутності явної токсичності, гістопатологічні зміни в цих та інших органах імунної системи (наприклад, кістковому мозку, лімфатичних вузлах, пейєрових бляшках), а також зміни рівня загального білка в сироватці крові, співвідношення «альбумін-

глобулін» та гематологічного профілю тварин, зокрема кількості лімфоцитів та загальної і диференційованої кількості клітин крові.

7.1.2. Рівень 2

Ефекти можуть бути підтверджені або, альтернативно, вперше виявлені в дослідженнях рівня 2, зокрема в EOGRTS (OECD TG 443), а також у дослідженнях хронічної токсичності / канцерогенності, проведених відповідно до OECD TG 452, 451 або 453. У EOGRTS група тварин спеціально призначена для оцінки потенційного впливу на розвиток імунної системи. У субхронічних і хронічних дослідженнях зазвичай надаються гематологічні та клінічні біохімічні дані, а також результати фенотипового аналізу клітин селезінки (Т-, В-, NK-клітини) і клітин кісткового мозку. EOGRTS надає додаткову інформацію про первинну відповідь антитіл IgM на Т-клітинно-залежний антиген, такий як еритроцити вівці / барана (SRBC) або гемоціанін равлика (KLH).

Оцінка потенціалу впливу дієтичної добавки на імунну систему може ґрунтуватися на комплексній оцінці результатів, отриманих у дослідженнях токсичності рівнів 1 і 2. Якщо ці результати вказують на те, що дієтична добавка має такий потенціал, слід розглянути можливість проведення додаткових досліджень рівня 3 у кожному конкретному випадку. Зазвичай такі дослідження проводяться з метою вивчення механізмів, що лежать в основі виявлення ефектів, та/або біологічного значення.

7.1.3. Рівень 3

Можуть включати спеціалізовані функціональні дослідження, дослідження механізму дії та дослідження моделі хвороби при моделюванні захворювання (Керівництво з оцінки ризику імунотоксичності для хімічних речовин – WHO/IPCS, 2012).

До таких досліджень можуть належати:

- аналізи стимуляції мітогеном для В- і Т-клітин;
- функціональний аналіз природних клітин-кілерів, кількісне визначення та функціональний аналіз макрофагів, функціональний аналіз інтерлейкіну-2, продукція цитокінів лімфоцитами;
- аналізи комплементу: загальна гемолітична активність сироватки або окремих компонентів (C3a, C5a, ...);
- кінетична оцінка гуморальної відповіді на Т-клітинно-залежний антиген (первинна та вторинна відповіді на SRBC, правцевий анатоксин або інший) або на Т-незалежний антиген, такий як пневмококові полісахариди, тринітрофеніл-ліпополісахарид або інші;
- реакція гіперчутливості сповільненого типу на відомий сенсibilізатор Т-ефекторних клітин або оцінка оборотності;
- інфекційна проба (Trichinella, Candida або інше у щурів, Listeria або інше у мишей) або пухлинна проба (MADB106 або інше у щурів, або саркома PYB6 у мишей);
- альтернативні методи з використанням клітин пуповини людини, такі як клоногенні аналізи гемопоетичних прогеніторів.

7.2. Алергія

На даний час немає підтверджених досліджень на лабораторних тваринах, які б дозволили оцінити потенціал речовини викликати алергічні реакції у чутливих осіб після перорального впливу.

Якщо дієтична добавка є потенційним алергеном (наприклад, білок або пептид) або містить залишки білків чи інших відомих потенційно алергенних молекул, при оцінці алергенних компонентів слід дотримуватися принципів, розглянутих у Керівництві EFSA щодо алергенності ГМО. Ці принципи визначення алергенності включають дослідження структурних аспектів білка

або пептиду, підходи *in silico* (або біоінформатики), зв'язування IgE та клітинні методи, аналітичні методи профілювання та тваринні моделі (EFSA, 2010).

Оскільки жоден експериментальний метод не дає переконливих доказів алергенності та алергічних реакцій, рекомендується застосувати підхід, що ґрунтується на сукупності доказів з урахуванням усієї інформації, отриманої за допомогою різних методів тестування.

У разі виявлення алергенності харчової добавки на сьогоднішній день загальновизнано, що визначити порогове значення (NOAEL) для такого ефекту важко, оскільки існують різні порогові значення для індукції та виклику алергенної відповіді разом із ідіосинкратичними реакціями. Тому Комісія враховуватиме такий несприятливий вплив у кожному конкретному випадку.

7.3. Реакції непереносимості

Реакції непереносимості дієтичних добавок не мають імунологічного походження. Вони можуть бути спричинені генетично обумовленими особливостями метаболізму або іншими невизначеними причинами. Ці реакції опосередковуються активними речовинами, такими як біоактивні аміни, гістамін або тирамін. Такі реакції важко передбачити, і вони здебільшого ґрунтуються на дослідженнях за участю людини, у яких повідомляється про спостереження побічних ефектів.

На даний час не існує валідованих експериментальних методів *in vitro* та *in vivo*, які б дозволили оцінити потенціал речовини викликати реакції непереносимості у чутливих осіб після перорального впливу.

7.4. Нейротоксичність

7.4.1. Рівень 1

Початкові ознаки потенційної нейротоксичної дії досліджуваної речовини отримуються за допомогою 90-денного дослідження токсичності. Слід також враховувати іншу інформацію, таку як результати скринінгу, SAR або фізико-хімічні властивості, що вказують на будь-який нейротоксичний потенціал.

Якщо початкові ознаки потенційної нейротоксичності спостерігаються на рівні 1, слід розглянути подальше дослідження на нейротоксичність (OECD TG 424). Такі дослідження спрямовані на підтвердження або подальшу характеристику (і кількісну оцінку) потенційної нейротоксичної реакції, спричиненої досліджуваною речовиною, і повинно проводитися в кожному окремому випадку.

На рівні 1 багаторівневого підходу до тестування проводиться 90-денне дослідження на щурах (OECD TG 408). Це дослідження передбачає вивчення впливу дієтичної добавки на ряд параметрів, які можуть свідчити про нейротоксичний ефект. До них належать: зміни клінічних ознак, функціональний комплекс спостережень, рухова активність та маса мозку відносно маси тіла за відсутності явної токсичності, гістопатологічні зміни у цьому органі.

7.4.2. Рівень 2

Ефекти можуть бути підтверджені або, альтернативно, вперше виявлені у дослідженнях рівня 2, зокрема EOGRTS (OECD TG 443), а також у дослідженнях хронічної токсичності / канцерогенності, проведених відповідно до OECD TG 452, 451 або 453. У EOGRTS група тварин спеціально призначена для оцінки потенційного впливу на нервову систему, що розвивається. У ході досліджень дані будуть отримані на основі детальних клінічних спостережень, реакцій на звукові подразники,

функціональної батареї, рухової активності та оцінки нейропатології потомства F1 і дорослих тварин.

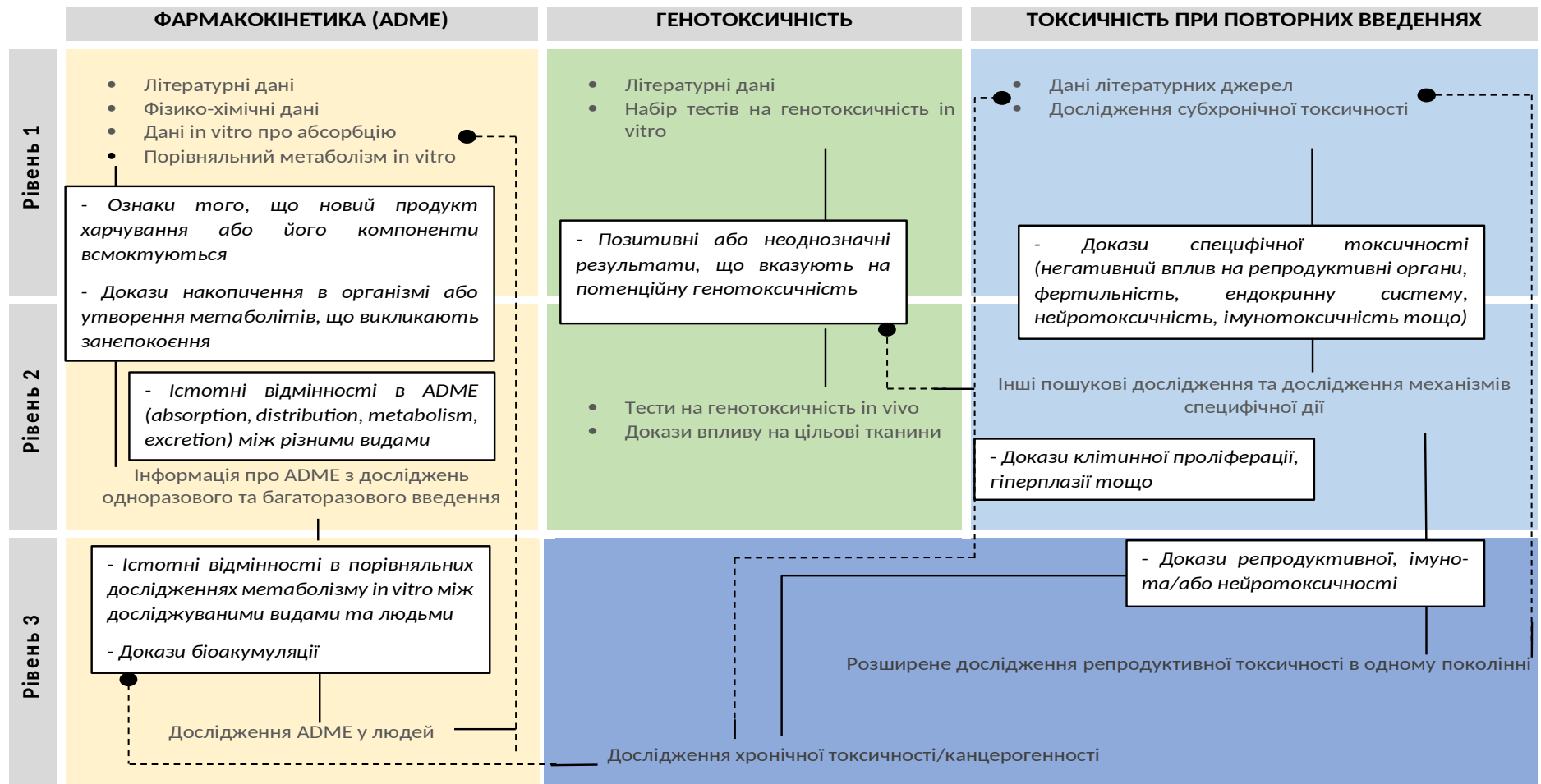
Оцінка потенціалу дієтичної добавки щодо несприятливого впливу на нервову систему може ґрунтуватися на комплексній оцінці результатів, отриманих у цих дослідженнях токсичності (рівні 1 і 2). Якщо ці результати вказують на те, що дієтична добавка має такий потенціал, слід розглянути можливість проведення додаткових досліджень рівня 3 у кожному конкретному випадку. Зазвичай вони призначені для дослідження основних механізмів ефектів, що спостерігаються, та/або їхнього біологічного значення.

7.4.3. Рівень 3

Дослідження рівня 3 можуть включати більш розширені поведінкові та морфологічні тести в дослідженні нейротоксичності розвитку. Керівництво щодо цих тестів можна знайти в OECD TG 426.

Схема багаторівневого підходу для оцінки ADME та токсикологічної оцінки нових харчових продуктів.

Білі прямокутники представляють тригери (умови), які вимагатимуть проведення досліджень вищого рівня, як показано стрілками. Суцільні лінії позначають стандартизований спосіб проведення багаторівневого підходу шляхом переходу від оцінок нижчого до вищого рівня; пунктирні лінії позначають відхилення в багаторівневому підході, де існуючі дані вимагають досліджень рівня 3, від ADME до токсичності або від генотоксичності до токсичності при повторних введеннях.



ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Guidance on the scientific requirements for an application for authorisation of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283.
2. Guidance on the preparation and submission of an application for authorisation of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283 1 (Revision 1) 2 EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), 3 it has been renamed 'Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA)' / Turck D. et al. [URL:https://www.researchgate.net/publication/350588714_Guidance_on_the_preparation_and_submission_of_an_application_for_authorisation_of_a_novel_food_in_the_context_of_Regulation_EU_20152283_1_Revision_1_2_EFSA_Panel_on_Dietetic_Products_Nutrition_and_All](https://www.researchgate.net/publication/350588714_Guidance_on_the_preparation_and_submission_of_an_application_for_authorisation_of_a_novel_food_in_the_context_of_Regulation_EU_20152283_1_Revision_1_2_EFSA_Panel_on_Dietetic_Products_Nutrition_and_All)
3. European Food Safety Authority. Fernando Aguilar, Riccardo Crebelli, Birgit Dusemund, Pierre Galtier, John Gilbert, David Gott, Ursula Gundert-Remy, Jürgen König, Claude Lambré, Jean-Charles Leblanc, Alicja Mortensen, Pasquale Mosesso, Dominique Parent-Massin, Ivan Stankovic, Paul Tobback, Ine Waalkens-Berendsen, Rudolf Antonius Woutersen, Matthew Wright. (2021) Guidance for submission for food additive evaluations. *EFSA Journal published by John Wiley and Sons Ltd on behalf of European Food Safety Authority*.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2760>
4. EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA), Turck, D., Bohn, T., Castenmiller, J., de Henauw, S., Engel, K. H., Hirsch-Ernst, K. I., Kearney, J., Knutsen, H. K., Maciuk, A., Mangelsdorf, I., McArdle, H. J., Naska, A., Pentieva, K., Siani, A., Thies, F., Tsabouri, S., Vinceti, M., Peláez, C., van Loveren, H., ... Turla, E. (2024). Guidance on the scientific requirements for a notification and application for authorisation of traditional foods from third countries in the context of Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA journal. European Food Safety Authority*, 22(9), e8966. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.8966>.

https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/8961?utm_source=chatgpt.com

5. Le Bloch, J., Rouault, M., Langhi, C. *et al.* The novel food evaluation process delays access to food innovation in the European Union. *npj Sci Food* 9, 117 (2025).

<https://doi.org/10.1038/s41538-025-00492-x>.

https://www.nature.com/articles/s41538-025-00492-x?utm_source=chatgpt.com

6. Miazzi, M. M., Dellino, M., Fanelli, V., Mascio, I., Nigro, D., De Giovanni, C., & Montemurro, C. (2024). Novel foods in the European framework: benefits and risks. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–10.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2024.2442062>

[https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2024.2442062?](https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2024.2442062?utm_source=chatgpt.com#d1e242)

[utm_source=chatgpt.com#d1e242](https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2024.2442062?utm_source=chatgpt.com#d1e242)

7. Morán J., Kilasoniya A. Application of the “Novel Foods” Regulation to Botanicals in the European Union. *Laws* 2024, 13(1), 10; <https://doi.org/10.3390/laws13010010>.

https://www.mdpi.com/2075-471X/13/1/10?utm_source=chatgpt.com

8. Ververis, E., Ackerl, R., Azzollini, D., Colombo, P. A., de Sesmaisons, A., Dumas, C., Fernandez-Dumont, A., Ferreira da Costa, L., Germini, A., Goumperis, T., Kouloura, E., Matijevic, L., Precup, G., Roldan-Torres, R., Rossi, A., Svejstil, R., Turla, E., & Gelbmann, W. (2020). Novel foods in the European Union: Scientific requirements and challenges of the risk assessment process by the European Food Safety Authority. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 137, 109515. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109515>

[https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920305408?](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920305408?utm_source=chatgpt.com)

[utm_source=chatgpt.com](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920305408?utm_source=chatgpt.com)

9. Орієнтація на нові продукти харчування: що означають оновлені рекомендації EFSA для оцінки безпеки. EFSA. 30 вересня 2024 року. URL:

https://www.efsa.europa.eu/en/news/navigating-novel-foods-what-efsas-updated-guidance-means-safety-assessments?utm_source=chatgpt.com

10. Оцінка системи безпечності харчових продуктів в Україні / IFC, FIAS. Canada, <https://dpss.gov.ua/storage/app/sites/12/uploaded-files/ifc-otsinka-sistemi-bezpechnosti-kharchovikh-produktiv-v-ukraini.pdf>