

ANNEXE I

**LISTE REPRENANT LES NOMS, LA FORME PHARMACEUTIQUE, LE DOSAGE
DU MEDICAMENT VETERINAIRE, LES ESPÈCES ANIMALES, LA VOIE
D'ADMINISTRATION ET LE NOM DU DEMANDEUR DANS LES ÉTATS
MEMBRES**

<u>État membre</u>	<u>Demandeur</u>	<u>Nom de fantaisie</u> <u>du produit</u>	<u>Forme</u> <u>pharmaceutique</u>	<u>Dosage</u>	<u>Espèce animale</u>	<u>Dose recommandée</u>
Belgique	Laboratorios Karizoo S.A. Mas Pujades 11-12 Pol. Ind. La Borda 08140 Caldes de Montbui ESPAGNE	Enro-K Solution orale	10% Solution orale	100mg/ml	Poulets et dindes	50 ml de produit par 100 litres d'eau ou 10 mg de principe actif par kg de poids corporel par jour. Le traitement doit être poursuivi au minimum pendant 3 jours. Pour les salmonelloses, le traitement doit être prolongé jusqu'à 5 jours.
République Tchèque	Laboratorios Karizoo S.A. Mas Pujades 11-12 Pol. Ind. La Borda 08140 Caldes de Montbui ESPAGNE	Enro-K Solution orale	10% Solution orale	100mg/ml	Poulets et dindes	50 ml de produit par 100 litres d'eau ou 10 mg de principe actif par kg de poids corporel par jour. Le traitement doit être poursuivi au minimum pendant 3 jours. Pour les salmonelloses, le traitement doit être prolongé jusqu'à 5 jours.
Allemagne	Laboratorios Karizoo S.A. Mas Pujades 11-12 Pol. Ind. La Borda 08140 Caldes de Montbui ESPAGNE	Enro-K Solution orale	10% Solution orale	100mg/ml	Poulets et dindes	50 ml de produit par 100 litres d'eau ou 10 mg de principe actif par kg de poids corporel par jour. Le traitement doit être poursuivi au minimum pendant 3 jours. Pour les salmonelloses, le traitement doit être prolongé jusqu'à 5 jours.
Irlande	Laboratorios Karizoo S.A. Mas Pujades 11-12 Pol. Ind. La Borda 08140 Caldes de Montbui ESPAGNE	Enro-K Solution orale	10% Solution orale	100mg/ml	Poulets et dindes	50 ml de produit par 100 litres d'eau ou 10 mg de principe actif par kg de poids corporel par jour. Le traitement doit être poursuivi au minimum pendant 3 jours. Pour les salmonelloses, le traitement doit être prolongé jusqu'à 5 jours.
Pologne	Laboratorios Karizoo S.A. Mas Pujades 11-12 Pol. Ind. La Borda 08140 Caldes de Montbui ESPAGNE	Enro-K Solution orale	10% Solution orale	100mg/ml	Poulets et dindes	50 ml de produit par 100 litres d'eau ou 10 mg de principe actif par kg de poids corporel par jour. Le traitement doit être poursuivi au minimum pendant 3 jours. Pour les salmonelloses, le traitement doit être prolongé jusqu'à 5 jours.

ANNEXE II
CONCLUSIONS SCIENTIFIQUES

RESUME GENERAL DES CONCLUSIONS SCIENTIFIQUES

1. Introduction

Enro-K solution orale à 10 % contient comme principe actif 100 mg d'enrofloxacin par ml de produit. L'enrofloxacin est une substance de synthèse antimicrobienne, à large spectre, appartenant à la famille d'antibiotiques des fluoroquinolones. Le médicament est destiné au traitement des maladies des systèmes respiratoire et digestif d'origine bactérienne ou mycoplasmique, chez les poulets et les dindes.

Au cours de la procédure décentralisée, des inquiétudes ont été soulevées quant à un risque environnemental potentiel grave qu'Enro-K solution orale à 10 % pouvait présenter pour les algues bleu-vert et les plantes terrestres. C'est notamment la quantité de données fournies sur l'évaluation des risques environnementaux concernant ces deux points qui a été mise en question.

2. Évaluation des risques pour l'environnement

Le demandeur a soumis une évaluation des risques environnementaux pour Enro-K solution orale à 10 % qui suivait globalement les lignes directrices et les recommandations établies. Le rapport d'évaluation des risques pour l'environnement présenté est fondé sur de nouvelles études engagées par le demandeur et sur des données bibliographiques tirées de revues soumises à l'examen par des pairs.

L'évaluation de phase I des risques environnementaux, réalisée en suivant les lignes directrices du VICH, donne des concentrations prévisibles dans l'environnement (PEC: predicted environmental concentrations) dans le sol pour Enro-K solution orale à 10 % utilisé chez les poulets de chair (10 mg/kg de poids corporel/jour, pendant 5 jours) supérieures à 100 µg/kg, nécessitant de ce fait une évaluation de phase II. Les calculs pour l'espèce mineure des dindes n'ont pas été approfondis dans cette saisine, car le risque sera de toute façon moindre.

2.1. Études du devenir dans l'environnement

2.1.1 Métabolisme et excrétion

Le principal métabolite de l'enrofloxacin est la ciprofloxacin. Cette dernière ne représentant que 2% de la production totale du métabolisme de l'enrofloxacin chez les poulets, il est supposé que l'on englobe tout risque potentiel dû aux métabolites en utilisant la méthode du résidu total, présumant que la dose totale est excrétée sous forme de composé parent ou de métabolites présentant une toxicité similaire à celle du composé parent.

2.1.2 Adsorption et désorption par le sol

Une étude publiée dans la littérature revue par des pairs et la littérature scientifique publique (Nowara *et al.* 1997)¹ a indiqué que l'enrofloxacin et d'autres fluoroquinolones sont fortement adsorbées par les sols à haute teneur en minéraux argileux montmorillonite et kaolinite, essentiellement par interactions électrostatiques entre des groupements carboxylés ionisés des fluoroquinolones et des cations échangeables présents dans les couches d'argile.

Le K_{oc} a été calculé à 110.885 l kg⁻¹ (moyenne géométrique).

2.1.3 Dégradation dans le sol

La disparition d'enrofloxacin non marquée a été étudiée selon les lignes directrices 307 de l'OCDE dans quatre sols présentant des teneurs différentes en charbon organique et en argile et des pH différents.

Les caractéristiques des sols et les valeurs des DT₅₀ et DT₉₀ qui en résultent étaient les suivantes: DT₅₀: 141, 103, 99 et 149 jours; DT₉₀: 469, 342, 330 et 495 jours.

¹ Nowara A, Burhenne J, Spiteller M. 1997. Binding of fluoroquinolone carboxylic acid derivatives to clay minerals. J Agric Food Chem: 45, 1459-63.

Le test a été réalisé suivant les lignes directrices recommandées, sans écart majeur et conformément aux BPL (bonnes pratiques de laboratoire). Le nombre et la variation des types de sols sont jugés acceptables. La différence entre les valeurs DT50 et DT90 sont relativement faibles. Dans le scénario le plus défavorable, il convient d'utiliser la valeur de DT50 la plus élevée pour une évaluation plus approfondie (p. ex. calculs de PEC_{sol-plateau}). Dans le cadre d'une approche moins prudente, la moyenne géométrique des quatre valeurs de DT50 pourrait être utilisée, à savoir 121 jours.

Le comité a reconnu que la conception de l'étude présentait des faiblesses, mais a accepté que les résultats puissent être utilisés pour les calculs de PEC.

2.2 Calcul des valeurs de PEC

2.2.1 PEC_{sol-plateau}

L'utilisation des lignes directrices actuelles donne une PEC_{sol-plateau} de 542,9 µg/kg. La moyenne géométrique des valeurs de DT50 des quatre sols aboutit à une PEC_{sol-plateau} de 506 µg/kg.

2.2.2 PEC_{eaux souterraines} (PEC_{eso})

La valeur de la PEC_{eso} qui en résulte est de 0,057 µg/l, ce qui est inférieur à la valeur critique de déclenchement de 0,1 µg/l.

Globalement, le CVMP est d'accord sur le fait qu'il est improbable que l'enrofloxacin pose un quelconque risque important pour les eaux souterraines.

2.2.3 PEC_{eaux de surface} (PEC_{esu})

L'application de la ligne directrice du CVMP sur l'évaluation de l'impact sur l'environnement pour les médicaments vétérinaires complétant les lignes directrices GL6 et GL38 du VICH donne une estimation de la valeur de la PEC_{esu} de 0,019 µg/l.

2.3. Études des effets et calcul des valeurs de PNEC (*presivable non effect concentration, concentration prévisible sans effet*)

2.3.1 Algues

Une étude tirée de la littérature scientifique publique, Robinson *et al.* (2005)², a porté sur la toxicité de l'enrofloxacin pour les algues *Microcystis aeruginosa* (cyanobactérie ou algue bleu-vert) et *Pseudokirchneriella subcapitata* (anciennement *Selenastrum capricornutum*, algue verte). Les valeurs de l'EC50 pour *M. aeruginosa* et *P. subcapitata* étaient respectivement de 49 et 3.100 µg/l. L'application d'un facteur d'évaluation de 100 donne une valeur de PNEC de 0,49 µg/l pour les algues.

Les antibiotiques sont susceptibles d'être toxiques pour les algues et les cyanobactéries. C'est l'une des raisons majeures pour lesquelles l'UE (EMEA/CVMP) a rendu obligatoires les tests sur des cyanobactéries pour tous les antibiotiques. Les données relatives à l'algue verte n'a fait l'objet d'aucun autre examen, car cette dernière était 50 fois moins sensible à l'enrofloxacin.

L'étude de Robinson et al. 2005 est, dans l'ensemble, un article scientifique bien présenté, qui a été publié dans une revue internationale bien établie soumise à l'examen par des pairs. Cependant, les données pour les tests sur la cyanobactérie *Microcystis aeruginosa* ne répondent pas aux critères de validité exigés dans les lignes directrices 201 de l'OCDE. Le coefficient de variation (CoV) n'est pas fourni; toutefois, la relative étroitesse de l'intervalle de confiance à 95 % autour des valeurs estimées de l'EC50 indique qualitativement une variation acceptable des données. Il est improbable que les taux de croissance aient été exponentiels et par conséquent les tests ont probablement été effectués dans des conditions de sensibilité sub-optimales. La corrélation entre les paramètres mesurés et le poids sec de biomasse est indiquée.

² Robinson AA, Belden JB, Lydy MJ. 2005. Toxicity of Fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms. *Env. Toxicol Chem* 24: 423-430.

Au regard de l'incertitude du devenir et de la disparition de l'enrofloxacin au cours du test, le CVMP ne peut appuyer l'utilisation des concentrations nominales pour l'établissement des valeurs de l'EC50. Il n'est pas clair dans quelle mesure une population aurait récupéré à la fin de la période d'essai. Avec les données de disparition existantes, il serait nécessaire d'utiliser une méthode de moyenne pondérée dans le temps.

La moyenne géométrique de la concentration pendant l'exposition a été utilisée pour estimer une mesure de l'impact plus réaliste par rapport aux concentrations nominales, comme cela est également suggéré dans les lignes directrices 201 de l'OCDE. Seuls deux points de données sont disponibles, à savoir le début et la fin de l'étude, pour lesquels malheureusement aucun niveau précis de concentration de récupération n'a été indiqué (moins de 20 %).

L'EC50 fondée sur la concentration d'exposition initiale peut être estimée à 51,45 µg/l, quand on prend en compte l'EC50 de 49 µg/l fondée sur la concentration nominale de départ (égale à 100 % de récupération) et une récupération initiale moyenne de 105 % de la concentration nominale.

L'EC50 fondée sur la concentration d'exposition finale peut être estimée à 4,9 µg/l, quand on prend en compte l'EC50 de 49 µg/l fondée sur la concentration nominale de départ (égale à 100 % de récupération) et une récupération moyenne de 10 % de la concentration nominale (moyenne de l'intervalle 0 à 20 %). La moyenne géométrique de ces deux EC50 est de 15,9 µg/l.

Le CVMP conclut que l'estimation d'une valeur exacte de la PNEC n'est pas faisable pour les cyanobactéries sur la base de l'étude de Robinson et al. 2005. Par conséquent, aucun rapport de risque (PEC/PNEC) n'est déduit pour les cyanobactéries.

2.3.2 Invertébrés aquatiques (*Daphnia magna*)

Robinson et al. (2005)² ont étudié la toxicité de l'enrofloxacin pour *Daphnia magna* (puce d'eau).

Bien que n'ayant pas été obtenus en suivant les lignes directrices de l'OCDE, les résultats sont suffisants pour démontrer que l'enrofloxacin n'est pas susceptible de présenter un risque quelconque pour les invertébrés aquatiques. Une valeur de PNEC prudente a donc pu être établie à 10 µg/l. L'utilisation de cette valeur de PNEC et de la PEC_{esu} établie ci-dessus (0,019 µg/l) permet d'établir un rapport de risque inférieur à 0,01 pour les invertébrés aquatiques.

2.3.3 Poissons

Robinson et al. (2005)² ont étudié la toxicité de l'enrofloxacin pour *Pimephales promelas* (tête-de-boule).

Bien que n'ayant pas été obtenus en suivant les lignes directrices de l'OCDE, les résultats sont suffisants pour démontrer que l'enrofloxacin n'est pas susceptible de présenter un risque quelconque pour les poissons. Une valeur de PNEC prudente a donc pu être établie à 10 µg/l. L'utilisation de cette valeur de PNEC et de la PEC_{esu} établie ci-dessus (0,019 µg/l) permet d'établir un rapport de risque inférieur à 0,01 pour les poissons.

2.3.4 Micro-organismes

L'effet de l'enrofloxacin sur la transformation de l'azote par les organismes du sol a été étudié conformément aux lignes directrices 216 de l'OCDE et à la méthode d'essai C.21 de l'UE.

La NOEC (no observed effect concentration, concentration sans effet observé) trouvée pour le sol d'un champ de sable terreux testé était de 2,9 mg d'enrofloxacin par kg de sol (masse sèche). Il a été estimé que l'EC50 pour la transformation de l'azote était supérieure à 29 mg/kg de sol. Ces données permettent de conclure qu'il n'y aurait aucun risque à des concentrations environnementales équivalentes à 10 fois la valeur de la PEC_{sol} établie ci-dessus (542,9 µg/kg).

2.3.5 Plantes

Il a été présenté un test de croissance des plantes terrestres, réalisé conformément aux lignes directrices 208 de l'OCDE.

L'effet de l'enrofloxacin sur l'émergence et la croissance de jeunes plants terrestres a été étudié sur les espèces suivantes: *Cucumis sativus* (concombre), *Lactuca sativa* (laitue), *Phaseolus aureus* (haricot mungo), *Avena sativa* (avoine), *Triticum aestivum* (blé) et *Secale cereale* (seigle).

Les semences ont été placées dans un sol naturel sableux contenant l'élément à tester aux concentrations nominales de 10, 31,6, 100, 316 et 1000 mg d'enrofloxacin/kg de sol sec (concombre, laitue, haricot mungo, avoine et blé) et de 3, 12, 48, 192 et 768 mg d'enrofloxacin/kg de sol sec (seigle), respectivement.

Il n'y avait pas d'effet dose-dépendant sur l'émergence des jeunes plants pour l'enrofloxacin jusqu'à la concentration la plus élevée testée. Cependant, la croissance (sur la base du poids frais par plante) de toutes les espèces testées était considérablement inhibée par l'enrofloxacin. Pour toutes les espèces testées, il a été observé un net effet dose-dépendant et les valeurs de l'EC₅₀ et de la NOEC se situaient entre 124 et 435 et en dessous de 10 à 100 mg/kg, respectivement. Le seigle était l'espèce la plus sensible, avec une EC₅₀ de 124 mg/kg.

L'essai sur les plantes a été réalisé en suivant les lignes directrices recommandées, sans écart majeur et conformément aux BPL. Tous les critères de validité des lignes directrices étaient remplis. Les valeurs d'EC₅₀ proposées sont acceptables et peuvent être utilisées pour en déduire une valeur de PNEC de 1,24 mg/kg (1240 µg/kg). L'utilisation de cette valeur de PNEC et de la PEC_{sol} établie ci-dessus (542,9 µg/kg) permet d'établir un rapport de risque de 0,44 pour les plantes.

Une étude tirée de la littérature scientifique publique, Boxall et al. (2006)³, a également été fournie, mais n'a pas été davantage prise en compte, car elle ne contenait pas assez de détails. L'étude nouvellement réalisée a été préférée pour l'évaluation de l'effet qu'exerce l'enrofloxacin sur l'émergence et la croissance de plantes terrestres.

2.3.6 Vers de terre

Un test de reproduction des vers de terre a été réalisé conformément aux lignes directrices 222 de l'OCDE.

Le test a été réalisé en suivant les lignes directrices recommandées, sans écart majeur et conformément aux BPL. Tous les critères de validité des lignes directrices étaient remplis. Les valeurs de NOEC proposées sont acceptables et peuvent être utilisées pour déduire une valeur de PNEC de 100 mg/kg (100.000 µg/kg). L'utilisation de cette valeur de PNEC et de la PEC_{sol} établie ci-dessus (542,9 µg/kg) permet de conclure que le rapport de risque est très inférieur à 1 pour les vers de terre.

2.4 Caractérisation des risques

La caractérisation des risques est calculée à partir du rapport de risque (RR), qui doit être inférieur à 1 à tous les niveaux taxonomiques pour pouvoir considérer que l'enrofloxacin ne représente pas de risque pour l'environnement.

On peut conclure que l'enrofloxacin ne présente pas de risque pour les invertébrés d'eau douce, les poissons, les micro-organismes du sol et les invertébrés du sol. Une modélisation de niveau supérieur a également indiqué un risque négligeable de contamination des eaux souterraines.

Le CVMP reconnaît que le demandeur a répondu à toutes les exigences en matière d'évaluation de la toxicité pour les plantes, notamment par de nouvelles données de toxicité et l'utilisation de la PEC_{sol}- plateau fondée sur de nouvelles études de dégradation.

³ Boxall ABA, Johnson P, Smith EJ, Sinclair CJ, Stutt E, Levy LS. Uptake of Veterinary Medicines from Sols into Plants. *J Agric Food Chem.* 2006;54, 2288-97

Le CVMP a conclu que les informations fournies sur la toxicité pour les cyanobactéries sont insuffisantes pour une caractérisation intégrale des risques, car les informations trouvées dans l'article de Robinson et al. 2005 soumis à l'examen par des pairs ne permettent pas une estimation intégrale, par exemple de la validité des données ni de la concentration d'exposition. Toutefois, le CVMP est d'avis qu'une marge de plus de 800 entre la PECesu estimée (0,019 µg/l) et l'EC50 calculée sur la base des données de l'article de Robinson et al. (15,9 µg/l) indique une exposition très faible pour les cyanobactéries résultant de l'utilisation de ce produit et donne l'assurance que le risque réel pour les cyanobactéries est acceptable. Une étude tirée de la littérature scientifique publique, Knapp et al. (2005)⁴, a indiqué que l'exposition est très faible.

MOTIFS DE LA RECOMMANDATION DE L'OCTROI D'UNE AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHÉ

Un ensemble complet de données requises pour réaliser une évaluation des risques pour l'environnement conformément au VICH et aux lignes directrices du CVMP a été fourni. Certaines données sont issues de nouvelles études menées en suivant les lignes directrices recommandées par l'OCDE et conformément aux BPL. Ces études ont été réalisées suite à des questions soulevées pendant la procédure décentralisée. D'autres données sont tirées d'articles soumis à l'examen par des pairs, parus dans la littérature scientifique publique. À partir de cet ensemble de données, il a été conclu que l'enrofloxacin, utilisée conformément aux indications du demandeur, ne présente pas de risque pour les invertébrés d'eau douce, les poissons, les micro-organismes du sol, les plantes et les invertébrés du sol. Une modélisation de niveau supérieur a par ailleurs indiqué un risque négligeable de contamination des eaux souterraines.

Sur la base des nouvelles études fournies, le CVMP conclut que le demandeur a répondu aux exigences applicables à l'évaluation de la toxicité pour les plantes.

Le CVMP est d'avis que les informations fournies sur la toxicité pour les cyanobactéries sont insuffisantes pour une caractérisation intégrale des risques, car les informations trouvées dans l'article de Robinson et al. 2005 soumis à l'examen par des pairs ne permettent pas une estimation intégrale, par exemple de la validité des données, ni de la concentration d'exposition. Toutefois, une marge de plus de 800 entre la PECesu estimée et l'EC50 calculée sur la base des données de l'article de Robinson et al. indique une exposition très faible pour les cyanobactéries résultant de l'utilisation de ce produit et donne l'assurance que le risque réel pour les cyanobactéries est acceptable.

Le CVMP conclut par conséquent que les objections soulevées par l'Allemagne ne doivent pas empêcher l'octroi d'une autorisation de mise sur le marché et que le dossier tel que soumis au cours de la procédure de saisine répond aux critères en ce qui concerne l'évaluation des risques pour les cyanobactéries (algues bleu-vert) et les plantes terrestres.

⁴ Knapp CW, Cardoza LA, Hawes JN, Wellington EMH, Larive CK, Graham DW. Fate and Effects of Enrofloxacin in Aquatic Systems under Different Light Conditions. Environmental Science & Technology. 2005;39:9140-6.

ANNEXE III

RESUME DES CARACTERISTIQUES DU PRODUIT, ETIQUETAGE ET NOTICE

Le résumé des caractéristiques du produit, l'étiquetage et la notice valides correspondent aux versions finales réalisées au cours de la procédure du groupe de coordination.