ALLEGATO I

ELENCO DEI NOMI, DELLE FORME FARMACEUTICHE, DEL DOSAGGIO DEL MEDICINALE VETERINARIO, DELLE SPECIE ANIMALI, DELLA VIA DI SOMMINISTRAZIONE, DEI RICHIEDENTI NEGLI STATI MEMBRI

Stato membro	Richiedente	Nome di fantasia	Forma farmaceutica	Dosaggio	Specie animale	Dose raccomandata
Belgio	Laboratorios Karizoo S.A. Mas Pujades 11-12 Pol. Ind. La Borda 08140 Caldes de Montbui SPAGNA	Unisol Soluzione Orale 10%	Soluzione orale	100 mg/ml	Polli e tacchini	50 ml di prodotto per 100 litri d'acqua oppure 10 mg del principio attivo per kg di peso corporeo al giorno. Il trattamento va proseguito per almeno 3 giorni. In caso di salmonellosi, la terapia deve essere prolungata a 5 giorni.
Repubblica ceca	Laboratorios Karizoo S.A. Mas Pujades 11-12 Pol. Ind. La Borda 08140 Caldes de Montbui SPAGNA	Unisol Soluzione Orale 10%	Soluzione orale	100 mg/ml	Polli e tacchini	50 ml di prodotto per 100 litri d'acqua oppure 10 mg del principio attivo per kg di peso corporeo al giorno. Il trattamento va proseguito per almeno 3 giorni. In caso di salmonellosi, la terapia deve essere prolungata a 5 giorni.
Germania	Laboratorios Karizoo S.A. Mas Pujades 11-12 Pol. Ind. La Borda 08140 Caldes de Montbui SPAGNA	Unisol Soluzione Orale 10%	Soluzione orale	100 mg/ml	Polli e tacchini	50 ml di prodotto per 100 litri d'acqua oppure 10 mg del principio attivo per kg di peso corporeo al giorno. Il trattamento va proseguito per almeno 3 giorni. In caso di salmonellosi, la terapia deve essere prolungata a 5 giorni.
Irlanda	Laboratorios Karizoo S.A. Mas Pujades 11-12 Pol. Ind. La Borda 08140 Caldes de Montbui SPAGNA	Unisol Soluzione Orale 10%	Soluzione orale	100 mg/ml	Polli e tacchini	50 ml di prodotto per 100 litri d'acqua oppure 10 mg del principio attivo per kg di peso corporeo al giorno. Il trattamento va proseguito per almeno 3 giorni. In caso di salmonellosi, la terapia deve essere prolungata a 5 giorni.
Polonia	Laboratorios Karizoo S.A. Mas Pujades 11-12 Pol. Ind. La Borda 08140 Caldes de Montbui SPAGNA	Unisol Soluzione Orale 10%	Soluzione orale	100 mg/ml	Polli e tacchini	50 ml di prodotto per 100 litri d'acqua oppure 10 mg del principio attivo per kg di peso corporeo al giorno. Il trattamento va proseguito per almeno 3 giorni. In caso di salmonellosi, la terapia deve essere prolungata a 5 giorni.

ALLEGATO II

CONCLUSIONI SCIENTIFICHE

SINTESI GENERALE DELLE CONCLUSIONI SCIENTIFICHE

1. Introduzione

Unisol 10% Soluzione Orale contiene 100 mg del principio attivo enrofloxacina per 1 ml di prodotto. L'enrofloxacina è una sostanza antimicrobica sintetica ad ampio spettro, appartenente al gruppo di antibiotici dei fluorochinoloni. Il prodotto è indicato per il trattamento delle malattie delle vie respiratorie e del tratto alimentare di origine batterica o micoplasmica nei polli e nei tacchini.

Nel corso della procedura decentralizzata, sono stati sollevati timori circa il fatto che Unisol 10% Soluzione Orale comporti un rischio potenziale grave per l'ambiente in termini di rischio per le alghe blu-verdi e per le piante terrestri. In particolare, è stata messa in discussione l'adeguatezza dei dati presentati relativamente alla valutazione del rischio ambientale su entrambi gli aspetti.

2. Valutazione del rischio ambientale

La valutazione del rischio ambientale presentata dal richiedente per Unisol 10% Soluzione Orale, in generale, rispetta le linee guida e le raccomandazioni ufficiali. La relazione sulla valutazione del rischio ambientale presentata si basa su nuovi studi avviati dal richiedente e su dati bibliografici estrapolati da riviste specializzate sottoposte a revisione critica (inter pares).

Stando alla valutazione del rischio ambientale di fase I, svolta in conformità alla linea guida VICH, risultano concentrazioni ambientali previste (PEC) nel terreno superiori a 100 µg/kg di Unisol 10% Soluzione Orale per i polli da carne (10 mg/kg peso corporeo/die, per 5 giorni); si rende, quindi, necessaria una valutazione di fase II. Per quanto concerne i calcoli relativi a specie minori, quali i tacchini, nell'ambito del presente deferimento non sono stati presi ulteriormente in considerazione, trattandosi di un rischio in ogni caso inferiore.

2.1. Studi sul destino ambientale

2.1.1 Metabolismo ed escrezione

La ciprofloxacina è il principale metabolita dell'enrofloxacina. Dal momento che la ciprofloxacina rappresenta solo il 2% del prodotto totale del metabolismo dell'enrofloxacina nei polli, qualsiasi potenziale rischio di metaboliti si ritiene compreso nell'ambito dell'approccio basato sul residuo totale, sull'assunto che la dose totale sarebbe espulsa sotto forma di composto progenitore oppure di metaboliti con tossicità analoga a quella del composto progenitore.

2.1.2 Adsorbimento e desorbimento del terreno

Stando a uno studio apparso nella letteratura specializzata sottoposta a revisione critica (Nowara et al. 1997)[1] l'enrofloxacina e altri fluorochinoloni sono fortemente adsorbiti nei terreni ad alto contenuto di minerali argillosi quali montmorillonite e caolinite, generalmente tramite interazioni elettrostatiche tra gruppi carbossilati ionizzati di fluorochinoloni e cationi scambiabili negli strati argillosi.

Il Koc era calcolato a 110.885 l/kg (media geometrica).

2.1.3 Degradazione del terreno

La scomparsa dell'enrofloxacina non marcata è stata esaminata in conformità alla linea guida OECD 307 su quattro terreni a diverso contenuto di carbonio organico e argilla nonché valori pH differenti.

Le caratteristiche del terreno e i risultanti valori DT50 e DT90 erano: DT50: 141, 103, 99 e 149 giorni; DT90: 469, 342, 330 e 495 giorni.

Il test non si discosta in maniera significativa dalla linea guida raccomandata all'uopo ed è stato condotto nel rispetto della buona prassi di laboratorio (GLP). Il numero e la varietà dei tipi di terreno

[1] Nowara, A.; Burhenne, J.; Spiteller, M. "Binding of fluoroquinolone carboxylic acid derivatives to clay minerals". *J Agric Food Chem*, n. 45 (1997), p. 1459-63.

sono ritenuti accettabili. La differenza dei valori DT50 e DT90 è relativamente ridotta. Qualora si consideri lo scenario più sfavorevole, il valore DT50 maggiormente elevato deve essere utilizzato per ulteriori valutazioni (ad es. calcoli PECterreno-plateau). Ove si opti per un metodo meno prudente, si potrebbe usare la media geometrica dei quattro valori DT50, ovvero 121 giorni.

Il comitato ha riconosciuto che, pur essendo lo studio concepito con delle lacune, i risultati potevano essere utilizzati per calcolare la concentrazione ambientale prevista (PEC).

2.2 Calcolo dei valori PEC

2.2.1 $PEC_{terreno\text{-}plateau}$

Stando alle attuali linee guida, la concentrazione ambientale prevista $(PEC)_{terreno\text{-}plateau}$ calcolata è pari a 542,9 µg/kg. Ove si utilizzi la media geometrica dei valori DT50 dei quattro terreni, la $PEC_{terreno\text{-}plateau}$ equivale a 506 µg/kg.

2.2.2 $PEC_{acqua\ freatica}$ (PEC_{gw})

Il valore PECgw risultante è 0,057 µg/l, ovvero al di sotto del valore critico di attivazione pari a 0,1 µg/l.

In linea generale, il CVMP si è detto concorde circa il fatto che è improbabile che l'enrofloxacina possa rappresentare rischi significativi per l'acqua freatica.

2.2.3 $PEC_{acqua\ di\ scolo}$ (PEC_{sw})

L'applicazione della linea guida Valutazione dell'impatto ambientale dei medicinali veterinari, elaborata dal CVMP a sostegno delle linee guida VICH GL6 e GL38, conduce una stima $PEC_{acqua\ di\ scolo}$ pari a 0,019 µg/l.

2.3. Studi degli effetti e calcolo dei valori PNEC

2.3.1 Alghe

Uno studio presente in letteratura, Robinson et al. (2005)2, ha analizzato la tossicità dell'enrofloxacina per alghe Microcystis aeruginosa (cianobatteri o alghe blu-verdi) e Pseudokirchneriella subcapitata (ex Selenastrum capricornutum, alga verde). I valori EC50 per M. aeruginosa e P. subcapitata erano rispettivamente 49 e 3.100 µg/l. L'applicazione di un fattore di valutazione di 100 produce un valore PNEC (concentrazione prevedibile senza effetti) pari a 0,49 µg/l per le alghe.

La probabilità che gli antibiotici risultino tossici per alghe e cianobatteri costituisce una delle ragioni principali per cui l'UE (EMEA/CVMP) ha reso obbligatori i test sui cianobatteri per tutti gli antibiotici. Non si rilevano ulteriori considerazioni circa i dati concernenti le alghe verdi, avendo queste ultime una sensibilità all'enrofloxacina di oltre 50 volte inferiore.

Lo studio di Robinson et al. 2005 è nell'insieme uno studio scientifico ben documentato, comparso in un'autorevole rivista internazionale sottoposta a revisione critica. Tuttavia, i dati relativi ai test sui cianobatteri Microcystis aeruginosa non sono conformi ai criteri di validità previsti dalla linea guida OECD 201. Il coefficiente di variazione (CoV) non risulta indicato, sebbene l'estensione relativamente ristretta dell'intervallo di confidenza al 95% intorno ai valori EC50 stimati indica, in termini qualitativi, una variazione accettabile dei dati. È improbabile che si siano verificati tassi di crescita esponenziali ed è quindi verosimile che i test siano stati condotti in condizioni di sensibilità subottimale. Sarebbe stato opportuno documentare la correlazione tra i parametri misurati e il peso secco della biomassa.

Alla luce dell'incertezza relativa al destino e alla scomparsa dell'enrofloxacina emersa durante il test, il CVMP non può sostenere l'impiego di concentrazioni nominali allo scopo di stabilire valori EC50. Non è chiaro fino a che punto sia intervenuto un recupero della popolazione al termine del saggio.

[2] Robinson, A.A.; Belden, J.B.; Lydy, M.J. "Toxicity of Fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms". *Env. Toxicol Chem*, n. 24 (2005), p. 423-430.

Tenuto conto dei dati sulla scomparsa esistenti, sarebbe opportuno impiegare un approccio basato sul valore medio ponderato nel tempo.

La concentrazione della media geometrica durante l'esposizione è stata utilizzata per calcolare una misura di effetto più realistica, rispetto alle concentrazioni nominali, come suggerito anche nella linea guida OECD 201. Si dispone di solo due punti di rilevazione dei dati, vale a dire l'inizio e la fine dello studio in cui purtroppo non è stato documentato nessun preciso livello di recupero della concentrazione (meno del 20%).

L'EC50 basato sulla concentrazione dell'esposizione iniziale può essere calcolato a 51,45 µg/l se si considera l'EC50 di 49 µg/l basato sulla concentrazione iniziale nominale (equivalente al recupero del 100%) e un recupero medio iniziale del 105% della concentrazione nominale.

L'EC50 basato sulla concentrazione dell'esposizione finale può essere calcolato a 4,9 µg/l, ove si consideri un EC50 pari a 49 µg/l basato sulla concentrazione iniziale nominale (equivalente al recupero del 100%) e un recupero medio del 10% della concentrazione nominale (media dell'intervallo di valori tra 0-20%). La media geometrica di questi due valori EC50 è 15,9 µg/l.

Il CVMP ritiene che, sulla base dello studio di Robinson et al. 2005, non sia possibile stimare un preciso valore PNEC per i cianobatteri. Di conseguenza, non è stato calcolato nessun quoziente di rischio (PEC/PNEC) per i cianobatteri.

2.3.2 Invertebrati acquatici (*Daphnia magna*)

Robinson et al. (2005)2 hanno analizzato il livello di tossicità dell'enrofloxacina per la Daphnia magna (pulce d'acqua).

Pur non tenendo conto della linea guida OECD raccomandata, i risultati sono ugualmente idonei a dimostrare che non è verosimile che l'enrofloxacina possa rappresentare un rischio per gli invertebrati acquatici. Un valore PNEC prudente potrebbe quindi essere fissato a 10 µg/l. Usando questo valore PNEC e la PECsw sopraindicata (0,019 µg/l) si può stabilire un quoziente di rischio per gli invertebrati acquatici inferiore a 0,01.

2.3.3 Pesci

Robinson et al. (2005)[2] hanno esaminato la tossicità dell'enrofloxacina per *Pimephales promelas* (vairone a testa grossa).

Pur non tenendo conto della linea guida OECD raccomandata, i risultati sono ugualmente idonei a dimostrare che non è verosimile che l'enrofloxacina possa rappresentare un rischio per i pesci. Un valore PNEC prudente potrebbe quindi essere fissato a 10 µg/l. Usando questo valore PNEC e la PECsw sopraindicata (0,019 µg/l) si può fissare un quoziente di rischio per i pesci inferiore a 0,01.

2.3.4 Microrganismi

L'effetto dell'enrofloxacina sulla trasformazione dell'azoto da parte degli organismi presenti nel terreno è stato analizzato in conformità alle linee guida OECD 216 e al metodo d'analisi dell'UE C.21.

La concentrazione priva di effetti osservati (NOEC) relativa al terreno franco-sabbioso analizzato risultava essere 2,9 mg di enrofloxacina per kg di terreno (massa secca). L'EC50 per la trasformazione dell'azoto è stata ritenuta superiore ai 29 mg/kg di terreno. Da questi dati si può concludere che non ci sarebbero rischi in presenza di concentrazioni ambientali 10 volte il valore PECterreno sopraindicato (542,9 µg/kg).

2.3.5 Piante

È stato presentato un test di crescita delle piante terrestri, svolto conformemente alla linea guida OECD 208.

Il test prendeva in esame l'effetto dell'enrofloxacina sulla nascita e la crescita di semenzali di piante terrestri. Per l'analisi sono state usate le seguenti specie: Cucumis sativus (cetriolo), Lactuca sativa

(lattuga), Phaseolus aureus (soia verde), Avena sativa (avena), Triticum aestivum (frumento) e Secale cereale (segale).

I semi sono stati immessi in un terreno sabbioso naturale contenente la sostanza in esame a concentrazioni nominali rispettivamente di 10, 31,6, 100, 316 e 1000 mg di enrofloxacina/kg di terreno secco (cetriolo, lattuga, soia verde, avena e frumento) e 3, 12, 48, 192 e 768 mg di enrofloxacina/kg di terreno secco (segale).

Non sono stati osservati effetti correlati alla concentrazione sulla nascita di semenzali, dovuti all'enrofloxacina fino alla massima concentrazione analizzata. Tuttavia, la crescita (in base al peso fresco per pianta) di tutte le specie analizzate è risultata considerevolmente inibita dall'enrofloxacina. Per tutte le specie analizzate, si è verificato un chiaro effetto correlato alla concentrazione e si sono riscontrati valori EC50 e NOEC compresi tra 124 e 435 e tra meno di 10 e 100 mg/kg, rispettivamente. La segale è risultata la varietà più sensibile con un EC50 pari a 124 mg/kg.

Il test sulle piante non si è discostato in modo significativo dalla linea guida raccomandata per i test ed è stata condotta nel rispetto della buona prassi di laboratorio. Tutti i criteri di validità della linea guida sono stati soddisfatti. I valori EC50 proposti sono ritenuti accettabili e possono essere usati per ricavare un valore PNEC di 1,24 mg/kg (1240 µg/kg). Usando detto valore PNEC e la PECterreno sopraindicata (542,9 µg/kg) si può stabilire un quoziente di rischio per le piante pari a 0,44.

È stato inoltre presentato uno studio, tratto dalla letteratura, Boxall et al. (2006)3. Lo studio non è stato preso in ulteriore considerazione in quanto non sufficientemente dettagliato. Il nuovo studio condotto è stato ritenuto preferibile al fine di valutare l'effetto dell'enrofloxacina sulla comparsa e la crescita di piante terrestri.

2.3.6 Lombrichi

È stato condotto un test sulla riproduzione dei lombrichi, svolto conformemente alla linea guida OECD 222.

Il test non si discosta in maniera sostanziale dalla linea guida raccomandata all'uopo e rispetta la buona prassi di laboratorio. Tutti i criteri di validità previsti dalla linea guida sono stati soddisfatti. I valori NOEC proposti risultano accettabili e possono essere utilizzati per ottenere un valore PNEC di 100 mg/kg (100.000 µg/kg). Utilizzando detto valore PNEC e la PECterreno sopra indicata (542,9 µg/kg) è possibile fissare un quoziente di rischio per i lombrichi molto al di sotto di 1.

2.4 Caratterizzazione del rischio

La caratterizzazione del rischio si ricava dal quoziente di rischio; quest'ultimo deve risultare inferiore a 1 in tutti i livelli tassonomici perché si possa ritenere che l'enrofloxacina non rappresenti un rischio per l'ambiente.

Se ne conclude che l'enrofloxacina non rappresenta un rischio per gli invertebrati d'acqua dolce, i pesci, i microrganismi del terreno e gli invertebrati del terreno. Una modellizzazione di livello superiore ha inoltre rivelato un rischio trascurabile per la contaminazione dell'acqua freatica.

Il CVMP ritiene che il richiedente abbia soddisfatto tutti i requisiti per la valutazione della tossicità per le piante, ovvero nuovi dati di tossicità e l'impiego della PECterreno-plateau basato su nuovi studi di degradazione.

Il CVMP ha accertato che le informazioni fornite sulla tossicità per i cianobatteri non sono sufficienti per una piena caratterizzazione del rischio, in quanto le informazioni riscontrate nel documento soggetto a revisione paritetica di Robinson et al. 2005 non consentono una valutazione completa, ad esempio, della validità dei dati e della concentrazione di esposizione. Tuttavia il CVMP ritiene che un margine di oltre 800 tra la PECsw stimata (0,019 µg/l) e l'EC50 calcolato sulla base dei dati contenuti nel documento di Robinson et al. (15,9 µg/l) indichi un'esposizione alquanto ridotta ai

[3] Boxall, A.B.A.; Johnson, P.; Smith, E.J.; Sinclair, C.J.; Stutt, E.; Levy, L.S. "Uptake of Veterinary Medicines from Soils into Plants". *J Agric Food Chem.*, n. 54 (2006), p. 2288-97.

cianobatteri, derivante dall'impiego del prodotto, e fornisca assicurazioni sul fatto che il rischio effettivo di esposizione ai cianobatteri sia accettabile. Da uno studio presente in letteratura, Knapp et al. (2005)4, emerge che l'esposizione è molto bassa.

MOTIVI DELLA RACCOMANDAZIONE DELLA CONCESSIONE DI UN'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO

L'insieme dei dati presentati è completo e idoneo a condurre una valutazione del rischio ambientale in conformità alle linee guida VICH e CVMP. Alcuni dati derivano da studi nuovi, condotti in conformità delle linee guida OECD raccomandate e nel rispetto della buona prassi di laboratorio; si tratta di studi svolti in seguito a quesiti emersi nel corso della procedura decentralizzata. Altri dati derivano da articoli apparsi nella letteratura specialistica sottoposta a revisione critica. Sulla base di questo insieme di dati, si perviene a concludere che l'enrofloxacina, utilizzata seguendo le indicazioni del richiedente, non rappresenta un rischio per gli invertebrati d'acqua dolce, i pesci, i microrganismi del terreno, le piante e gli invertebrati del terreno. Una modellizzazione di livello superiore ha, inoltre, rivelato un rischio trascurabile per la contaminazione dell'acqua freatica.

Il CVMP ha dedotto, dai nuovi studi presentati, che il richiedente ha soddisfatto i requisiti per la valutazione della tossicità per le piante.

Il CVMP è del parere che le informazioni fornite sulla tossicità per i cianobatteri non siano sufficienti per una caratterizzazione del rischio completa, perché le informazioni di cui al documento sottoposto a revisione critica di Robinson et al. (2005) non consentono una valutazione completa, ad es., della validità dei dati e della concentrazione di esposizione. Comunque, un margine di oltre 800 tra la PECsw stimata e l'EC50 calcolato sulla base dei dati contenuti nel documento di Robinson et al. indica un'esposizione molto ridotta ai cianobatteri dovuta all'utilizzo di questo prodotto e rassicura sul fatto che il rischio effettivo di esposizione ai cianobatteri sia accettabile.

Il CVMP conclude, quindi, che le obiezioni sollevate dalla Germania non debbano impedire il rilascio di un'autorizzazione all'immissione in commercio e che il fascicolo presentato nella procedura di deferimento soddisfa i requisiti necessari relativamente alla valutazione del rischio per i cianobatteri (alghe blu-verdi) e le piante terrestri.

[4] Knapp, C.W.; Cardoza, L.A.; Hawes, J.N.; Wellington, E.M.H.; Larive, C.K.; Graham, D.W. "Fate and Effects of Enrofloxacin in Aquatic Systems under Different Light Conditions". *Environmental Science & Technology*, n. 39 (2005), p. 9140-6.

ALLEGATO III

RIASSUNTO DELLE CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO, ETICHETTATURA E FOGLIO ILLUSTRATIVO

Le versioni valide del Riassunto delle caratteristiche del prodotto, dell'etichettatura e del foglio illustrativo sono quelle definitive raggiunte nel corso della procedura del gruppo di coordinamento.