

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 27 février 2014

## **AVIS**

### **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail**

**relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de tylosine ou de florfenicol  
dans les eaux destinées à la consommation humaine.**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont rendus publics.*

---

L'Anses s'est autosaisie le 7 mai 2013 pour la réalisation de l'expertise suivante : Évaluation des risques sanitaires (ERS) liés à la présence de tylosine ou de florfenicol dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH).

#### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

Le laboratoire d'hydrologie de Nancy (LHN) de l'Anses, sur la base du rapport « Hiérarchisation » (Afssa, 2008) a réalisé une campagne nationale portant sur la recherche des résidus de médicaments humains et vétérinaires dans les ressources utilisées pour la production d'eaux d'alimentation et dans les eaux traitées (Anses, 2011 - convention DGS « médicaments et eaux »). Les résultats de cette campagne, publiés début 2011, fournissent une image ponctuelle de la présence de résidus de médicaments dans les EDCH en France. Lors de cette campagne, 13 résidus de médicaments ont été quantifiés dans des EDCH dont la tylosine et 5 ont été détectés, mais non quantifiés, dont le florfenicol.

En 2009, la Direction générale de la santé (DGS) a saisi conjointement l'Anses et l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (Ansm) d'une demande d'avis relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés à la présence de résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH) (saisine 2009-SA-0210). En février 2013, l'Anses a répondu à cette saisine par un avis et un rapport du groupe de travail (GT) « Résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine : méthodologie générale d'évaluation des risques sanitaires appliquée à l'exemple de la carbamazépine - 2 » auquel ont participé un représentant de l'Ansm et un représentant de l'Agence nationale du médicament vétérinaire (Anmv). Une méthode générale pour l'ERS liés à la présence de résidus de médicaments dans l'EDCH, reprenant le volet publié en 2010 (Afssa, 2010), a été définie puis appliquée à une molécule utilisée en médecine humaine (la carbamazépine) et à une molécule

utilisée en médecine vétérinaire (la danofloxacin) quantifiées dans des EDCH lors de la campagne nationale d'analyses du LHN de 2011 (Anses, 2013).

Parmi les 15 résidus de médicaments retrouvés dans les EDCH lors de la campagne du LHN (pour lesquels les risques sanitaires n'ont pas encore été évalués), seuls 2 sont des médicaments utilisés uniquement en médecine vétérinaire. Compte tenu de la mise à disposition des données nécessaires aux ERS par l'Anmv et de son implication effective dans ces travaux, l'Anses a choisi de poursuivre l'évaluation des risques liés à la présence de résidus de médicaments dans les EDCH en s'autosaisissant pour évaluer les risques sanitaires liés à la présence de tylosine ou de florfenicol dans les EDCH.

## **2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE**

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « Eaux ». L'Anses a confié l'expertise à deux rapporteurs externes et à un représentant de l'Anmv (annexe I). Les travaux ont été présentés au groupe de travail « Évaluation des risques sanitaires associés aux paramètres chimiques des eaux destinées à la consommation humaine » (GT « ERS EDCH ») le 12 novembre 2013 et au CES « Eaux » entre le 5 novembre 2013 et le 3 décembre 2013. Ils ont été adoptés par le CES « Eaux » réuni le 3 décembre 2013.

L'expertise a été réalisée suivant la méthode d'évaluation des risques sanitaires liés aux résidus de médicaments dans les EDCH établie par le GT « Résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine : méthodologie générale d'évaluation des risques sanitaires appliquée à l'exemple de la carbamazépine – 2 » et validée par le CES Eaux en 2013 (Anses, 2013). L'expertise a été réalisée sur la base de la littérature scientifique, des travaux des organismes internationaux, des résumés de dossiers de limites maximales de résidus (LMR) de l'Agence européenne du médicament (EMA) et des données confidentielles mises à disposition des rapporteurs par l'Anmv. **Les aspects relatifs à l'antibiorésistance n'ont pas été pris en compte dans le présent avis.**

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

## **3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES**

Les principales étapes de la méthode générale d'ERS liés à la présence de résidus de médicaments dans les EDCH comprennent 8 modules de A à H (Anses, 2013). Ce plan est ci-après appliqué à la tylosine et au florfenicol.

### **3.1. Tylosine**

#### **3.1.1. Module A : Caractéristiques de la molécule**

La tylosine est un antibiotique à large spectre de la famille des macrolides qui n'est utilisé qu'en médecine vétérinaire. Le Tableau I présente la consommation de la tylosine en médecine vétérinaire en France entre 2008 et 2012. La tylosine est surtout employée dans les infections à mycoplasmes chez les ruminants, les porcs et les volailles.

**Tableau I. Consommation de tylosine en France en médecine vétérinaire en tonnes de principe actif entre 2008 et 2012.**

	2008	2009	2010	2011	2012
<b>Tylosine en tonnes</b>	70,7	60,9	58,8	49,7	41,7

La tylosine se compose d'un mélange de macrolides : tylosine A (80 à 90 %), tylosine B (desmycosine), tylosine C (macroline) et tylosine D (relomycine). La plupart de l'activité microbiologique réside dans la tylosine A. Les tylosines B, C et D et la dihydrodesmycosine (métabolite) ont respectivement 83 %, 75 %, 35 % et 31 % de l'activité de la tylosine A (JECFA, 2009b).

Les propriétés physico-chimiques de la tylosine sont présentées dans le Tableau II.

**Tableau II. Caractéristiques de la tylosine (SRC, 2011).**

Paramètre	Valeur
<b>Numéro CAS</b>	1401-69-0 Phosphate de tylosine A: CAS 1405-53-4 Tartrate de tylosine A: CAS 1405-54-5 Tylosine A : CAS 8026-48-0
<b>Formule</b>	C <sub>46</sub> H <sub>77</sub> NO <sub>17</sub>
<b>Formule développée</b>	
<b>Classe chimique</b>	Macrolide
<b>Usage</b>	Vétérinaire uniquement
<b>Masse molaire</b>	916,1 g.mol <sup>-1</sup>
<b>Constante de Henry</b>	5,77.10 <sup>-38</sup> atm.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> à 25°C
<b>Tension de vapeur</b>	1,98.10 <sup>-34</sup> mmHg à 25°C
<b>Point de fusion</b>	128 - 132 °C
<b>Solubilité dans l'eau</b>	5 mg.L <sup>-1</sup> à 25°C
<b>pKa</b>	7,73
<b>Log K<sub>ow</sub></b>	1,63 (McFarland <i>et al.</i> , 1997; INERIS, 2013b)
<b>K<sub>oc</sub></b>	746 L.kg <sup>-1</sup> (INERIS, 2013b)
<b>K<sub>d</sub></b>	8,3 - 128 L.kg <sup>-1</sup> (Beausse, 2004) 553 - 7988 L.kg <sup>-1</sup> (pH 5,6 – 6,3 - Rabolle et Spliid, 2000)

### 3.1.2. Module B : Pharmacocinétique et identification des métabolites pertinents

Aucune donnée de pharmacocinétique de la tylosine chez l'Homme n'a été recensée dans la littérature scientifique.

#### Pharmacocinétique chez l'animal

L'administration de tylosine par voie orale chez le rat et le chien induit des pics de concentration sérique dans les 2 h, suivi d'un déclin rapide. Chez le chien, l'absorption semble avoir lieu dans

l'intestin plutôt que dans l'estomac. Chez les chiens ayant reçu des doses croissantes, l'absorption augmente moins que la dose.

La tylosine est légèrement à modérément liée aux protéines plasmatiques (30 à 47 %) et est largement distribuée dans les liquides organiques et les tissus. Le volume de distribution de la tylosine varie de 1 à 14,6 L.kg<sup>-1</sup> chez diverses espèces animales (JECFA, 2009a). Des études de distribution tissulaire limitée chez les rats avec un médicament radiomarqué ont révélé des niveaux plus élevés dans le foie et les reins que dans les graisses.

L'élimination urinaire de doses orales chez les rats et les chiens représentait 1 à 2 % de la dose administrée, le reste étant éliminé par les fèces. L'excrétion biliaire n'a pas été quantifiée, mais les concentrations de tylosine étaient considérablement plus élevées dans la bile que dans le sérum chez les rats et les chiens (JECFA, 2009a). Après administration intraveineuse, la tylosine est rapidement éliminée du sang, avec des demi-vies de 0,4 à 4,5 h chez plusieurs espèces animales. La clairance corporelle totale de la tylosine est plus élevée chez les rongeurs (> 70 ml.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>) et plus faible chez les bovins adultes, ovins et caprins (< 10 ml.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>) (JECFA, 2009a).

#### Identification des métabolites principaux

La tylosine est principalement métabolisée dans le foie en quatre métabolites principaux et plusieurs métabolites mineurs chez la plupart des espèces étudiées. La tylosine A est le résidu le plus abondant chez les bovins, les porcs et les poulets. Une voie métabolique principale est la réduction de la tylosine A en relomycine (tylosine D) (JECFA, 2009a).

Chez le rat, les composés principaux retrouvés dans les fèces sont la relomycine (tylosine D) et dihydrodesmycosine. Les composés mineurs incluent la tylosine A, la macrocine (tylosine C) et une gamme de métabolites résultant de l'hydrolyse du cycle lactone.

### **3.1.3. Module C : Identification des produits de transformation pertinents**

#### Produits de dégradation

Sassman *et al.* (2007) ont identifié trois produits de dégradation de la tylosine A (tylosine conjuguée avec deux sucres) dans les sols. Ces produits correspondent à l'oxydation d'une fonction aldéhyde en acide carboxylique, couplée ou non à la déconjugaison. Hu et Coats (2007) ont étudié la (photo)dégradation de la tylosine (sous forme tartrate) dans une eau de mare et un sol. Les échantillons ont subi des cycles d'exposition solaire alternés de 12 heures. Des durées de demi-vie ont été évaluées à 200 jours dans l'eau et à 7 jours dans le sol. Un schéma de dégradation a été établi, montrant que la tylosine subit une réaction de photoisomérisation sur ses doubles liaisons (Figure 1). Les photoisomères sont également observés lors d'exposition dans de l'eau purifiée. Ces produits de dégradation avaient été décrits antérieurement dans une étude en conditions de laboratoire (Paesen *et al.*, 1995).

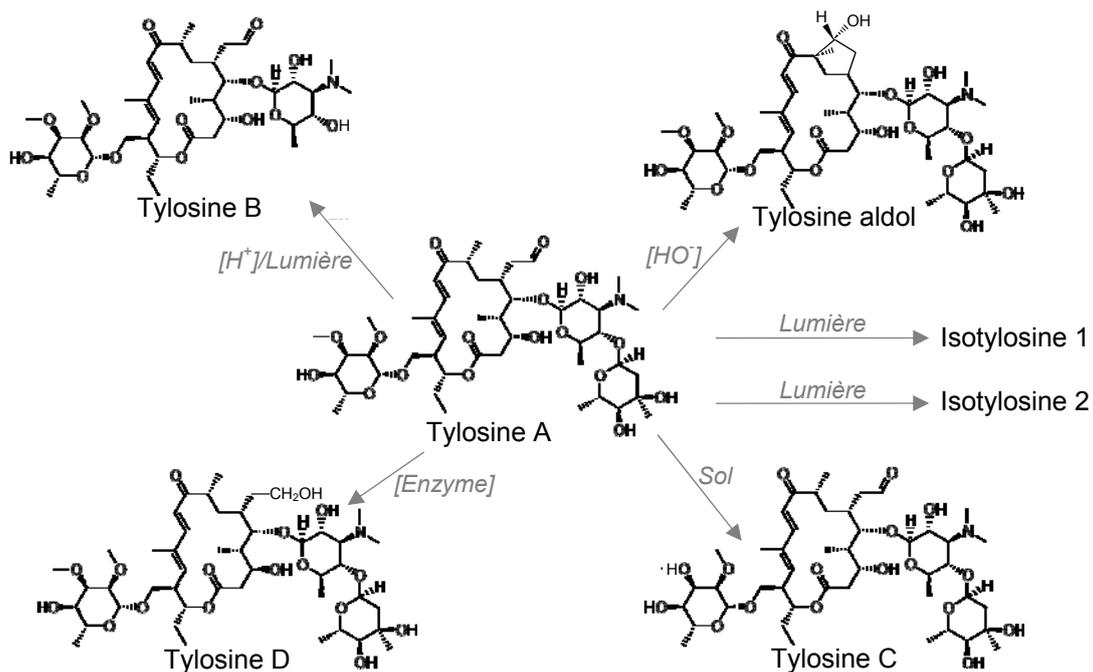


Figure 1. Voies de dégradation de la tylosine dans l'environnement proposées par Hu et Coats (2007).

Dans l'environnement, une étude rapporte des résultats concernant la dégradation de la tylosine à la surface de quatre sols différents, en conditions stérile ou non stérile. La durée de demi-vie varie alors de 8 à 16 jours et les auteurs montrent que la dégradation est principalement due à des processus abiotiques (Liu *et al.*, 2010).

#### Effets des traitements de potabilisation

Aucune donnée relative à l'élimination de la tylosine par adsorption sur charbon actif n'a été identifiée.

L'étude de Chamberlain et Adams (2006) montre que la tylosine est éliminée par réaction avec le chlore dans les conditions expérimentales de laboratoire. Dans l'eau distillée, en présence de  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  de chlore actif ( $\text{Cl}_2$ ) et après un temps de contact de 2 heures, plus de 85 % de la tylosine est éliminée (concentration initiale entre  $0,5$  et  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). Dans une eau de surface (dureté de  $245 \text{ mg.L}^{-1}$  en  $\text{CaCO}_3$  et  $6 \text{ mg.L}^{-1}$  de carbone organique dissous), en présence de  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  de chlore actif ( $\text{Cl}_2$ ) avec un temps de contact de 2 heures, le taux de dégradation est 69 %. Les sites réactifs sont la cétone  $\alpha,\beta$ -insaturée (diène conjugué) et/ou l'amine tertiaire. Cependant, aucune étude investiguant les produits de transformation formés n'a été identifiée.

La réactivité de la tylosine avec l'ozone a également été étudiée sur des aspects cinétiques (Dodd *et al.*, 2006). Les constantes de vitesse de réaction sont élevées ( $10^5$  à  $10^6 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ ). Toutefois, aucune étude à la connaissance des experts n'a porté sur les produits de transformation formés.

La tylosine est donc transformée lors des traitements des EDCH mettant en œuvre l'ozone et le chlore mais les produits de transformation principaux n'ont pas été identifiés.

#### **3.1.4. Module D : Évaluation de l'exposition de l'Homme via l'EDCH**

La tylosine a été quantifiée dans 4 échantillons d'eaux de boisson sur 113 en Chine (LoQ =  $0,9 \text{ ng.L}^{-1}$ ) avec une médiane de  $6,4 \text{ ng.L}^{-1}$  pour les résultats quantifiés et une concentration maximale de  $7 \text{ ng.L}^{-1}$  (Leung *et al.*, 2013). Par ailleurs, elle a été quantifiée à  $3,9 \text{ ng.L}^{-1}$  dans une eau de boisson du Missouri (Wang *et al.*, 2011).

Au cours de la campagne nationale d'analyses des résidus de médicaments dans les EDCH, le LHN a recherché la tylosine dans 276 échantillons d'eaux traitées, prélevés sur l'ensemble du territoire français en 2011 (Anses, 2011). Une méthode multi-résidus par extraction sur phase solide et analyse par HPLC-MS-MS a été utilisée. La quantification de la tylosine est considérée comme indicative par le laboratoire. La limite de quantification (LoQ) est de 10 ng.L<sup>-1</sup>.

La tylosine a été détectée, mais non quantifiée, dans 5 échantillons d'EDCH et a été quantifiée une fois à 20 ng.L<sup>-1</sup> (Tableau III).

**Tableau III. Résultats de dosage de la tylosine dans des EDCH en France (Anses, 2011).**

Molécules	n	Limite de détection (ng.L <sup>-1</sup> )	Limite de quantification (ng.L <sup>-1</sup> )	Fréquence de détection (> LoD en %)	Fréquence de quantification (> LoQ en %)	Teneur maximale (ng.L <sup>-1</sup> )
Tylosine	276	3	10	2,2	0,4	20

Ces résultats donnent une image ponctuelle de la contamination des EDCH par la tylosine en France. Afin de se placer dans la situation la plus défavorable, un scénario « pire-cas » est retenu en considérant une exposition journalière égale à la concentration maximale mesurée, soit **C<sub>max</sub> = 20 ng.L<sup>-1</sup>**.

### 3.1.5. Module E : Effets biologiques et cliniques

#### Mécanisme d'action

Les macrolides agissent au niveau de la sous-unité ribosomale 50 S et inhibent ainsi la synthèse protéique du pathogène.

#### Effets sur la flore intestinale humaine

Dans une étude sur 11 ou 12 volontaires humains d'une durée de 6 mois, une dose de 20 mg.j<sup>-1</sup> est rapportée avoir un effet marginal sur le nombre de streptocoques résistants. Aucune tendance à l'augmentation des résistances n'a été observée chez 2 femmes volontaires exposées à 2 ou 5 mg.j<sup>-1</sup> de tylosine par voie orale pendant 3 mois. Aucun autre effet indésirable n'a été signalé dans ces deux études (EMEA, 1997b).

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour 83 souches de 9 genres bactériens représentatifs de la flore intestinale humaine (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* et *Enterococcus*) ont été testées *in vitro* à pH 6,6 et 10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. La moyenne géométrique des CMI<sub>50</sub> obtenues avec la tylosine est de 0,606 µg.mL<sup>-1</sup> (EMEA, 1997b).

La tylosine présente une absence d'activité antibactérienne contre *Escherichia coli* avec des valeurs de CMI supérieures à 128 µg.mL<sup>-1</sup>. Les groupes les plus sensibles à l'activité antibactérienne de la tylosine sont les Gram positifs anaérobies : *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium* et *Peptostreptococcus*. Les CMI<sub>50</sub> pour *Bifidobacterium* spp. et *Clostridium* spp. sont de 0,062 µg.mL<sup>-1</sup> pour chacun (JECFA, 2009b).

#### Toxicité aiguë

Aucune information n'est disponible sur les effets d'une exposition aiguë de l'Homme à la tylosine.

Chez l'animal, la tylosine présente une faible toxicité aiguë. Par voie orale, les DL<sub>50</sub> sont supérieures à 5 000 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup> chez les rats et les souris et supérieures à 800 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup> chez les chiens. A cette dose chez les chiens, les signes de toxicité comprenaient la salivation, des vomissements et la défécation (EMEA, 1997b; JECFA, 2009b).

Des études comparatives sur la toxicité par voie intraveineuse de la tylosine, la desmycosine (tylosine B) et la macrocine (tylosine C) chez des rats femelles ont donné, respectivement des DL<sub>50</sub> de 321, 193 et 189 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>. Des tremblements, des convulsions cloniques et des faiblesses des membres ont été observés avec les trois molécules. Un mauvais toilettage a été observé chez les animaux ayant reçu la tylosine et une hypoactivité et une ataxie chez ceux exposés à la desmycosine (EMEA, 1997b; JECFA, 2009b).

### Toxicité en doses répétées

Les résultats disponibles d'études de toxicité à doses répétées par ingestion de tylosine sont présentés dans le Tableau IV. Plusieurs études anciennes de toxicité par administration répétée de tylosine chez le rat ou le chien ont été réalisées, mais seul le résumé de ces études est disponible (EMEA, 1997b; JECFA, 2009b).

**Tableau IV. Études de toxicité de la tylosine à doses répétées par voie orale (EMEA, 1997b; JECFA, 2009b).**

Espèce	Durée	Doses testées mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> <i>Effectif</i>	Voie administration	Effet toxique	Conclusions / Remarques
Rats Harlan	17 mois	0, 1 000, 3 000 et 10 000 mg.kg aliment <sup>-1</sup> <i>n = 3/sexe/dose</i>	alimentation	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ taille et masse des ovaires et ↑ de l'épaisseur et de la masse de l'utérus à toutes les doses</li> <li>• Métaplasie squameuse de l'utérus de 2 femelles ayant reçu 10 000 mg.kg aliment<sup>-1</sup> (effets considérés comme liés à l'âge plutôt qu'au traitement).</li> </ul>	résumé uniquement
Rats Harlan	2 ans	0, 10, 100 et 1 000 mg.kg aliment <sup>-1</sup> <i>n = 25/sexe/dose</i>	alimentation	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Survie à 2 ans de 30 %, 41 %, 70 % et 51 % pour les doses dans l'ordre croissant</li> </ul>	résumé uniquement
Rats	2 ans	0, 20 000, 50 000, 100 000 et 200 000 mg.kg aliment <sup>-1</sup> <i>n = 10/sexe/dose</i>	alimentation	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ gain de poids et consommation alimentaire aux 2 doses les plus élevées.</li> <li>• morts de tous les rats à 12 mois et malnutrition et atrophie / nécrose des organes lymphoïdes à la dose la plus élevée.</li> </ul>	résumé uniquement
Chiens Mongrel et Beagle	2 ans	0, 1, 10, 100, 200 et 400 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> <i>n = 2/sexe/dose x 2 espèces</i>	capsule	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pyélonéphrite, vomissements et diarrhée à 200 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> <li>• Pyélonéphrite et néphropathie à 400 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> </ul>	DSENO = 100 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>
Rats Wistar F1 de l'étude de reprotoxicité (décrite Tableau VI)	1 an	0, 1 000, 5 000 et 10 000 mg.kg aliment <sup>-1</sup> <i>n = 25/sexe/dose</i>	alimentation	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↑ irritabilité et hyperactivité</li> <li>• ↑ dose-dépendante du nombre de lymphocytes et ↓ correspondante du nombre de neutrophiles à 500 et 1000 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> <li>• ↑ glycémie à 1000 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> (significatif chez les femelles)</li> <li>• urine plus alcaline chez les ♀ à 500 et 1 000 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> </ul>	DSENO = entre 40 et 50 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> (conversion aliment vers pc)

Chez des chiens, une toxicité rénale est observée avec une dose sans effet nocif observé de 100 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>. Chez des rats, une augmentation dose-dépendante du nombre de lymphocytes et

une diminution correspondante du nombre de neutrophiles ont été rapportées avec une DSENO de 50 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> (EMEA, 1997b; JECFA, 2009b).

### Cancérogène et mutagène

Plusieurs tests de mutagénicité de la tylosine ont été réalisés *in vitro* et *in vivo* (EMEA, 1997b; JECFA, 2009b) :

- test de mutation génique *in vitro* sur cellules de lymphome de souris : résultats faiblement positifs en l'absence d'activation métabolique et à des doses cytotoxiques supérieures à 850 µg.mL<sup>-1</sup> (concentrations testées : de 10 à 1 000 µg.mL<sup>-1</sup>) ;
- test de mutation génique *in vitro* sur cellules d'ovaires de hamster chinois (CHO) : pas d'augmentations des mutations aux concentrations de 100 à 1 500 µg.mL<sup>-1</sup> ;
- tests d'aberrations chromosomiques *in vitro* sur cellules d'ovaires de hamster chinois (CHO) : non mutagène aux doses de 500 à 1 000 µg.mL<sup>-1</sup> avec ou sans activation métabolique ;
- tests des micronoyaux *in vivo* sur moelle osseuse de souris : test négatif pour des expositions journalières à des doses de 1 250 à 50 000 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.

À partir de ces éléments, l'EMA et le JECFA concluent que la tylosine n'est probablement pas mutagène (EMEA, 1997b; JECFA, 2009b).

L'étude de cancérogénicité de 2 ans sur des rats Wistar (Tableau V) conclut à une absence d'incidence de la tylosine sur les tumeurs malignes. Les adénomes hypophysaires bénins observés sont attribués à l'augmentation du poids corporel et de la survie des rats et non à un effet direct de la tylosine. Pour cette étude, une DSENO de 400 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> a été établie.

**Tableau V. Étude de cancérogénicité de la tylosine par voie orale (EMEA, 1997b; JECFA, 2009b).**

Espèce	Durée	Doses testées mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> <i>Effectif</i>	Voie administration	Effet toxique	Conclusions / Remarques
Rats Wistar F1 provenant de l'étude de reprotoxicité (décrite Tableau VI)	2 ans répliqués cancérogénicité	0, 1 000, 5 000 et 10 000 mg.kg aliment <sup>-1</sup> <i>n = 40/sexe/dose</i>	alimentation	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Modification de la survie à 3-6 mois sans relation avec la dose</li> <li>• ↗ consommation alimentaire à partir de 5000 mg.kg aliment<sup>-1</sup></li> <li>• ↗ poids corporel des ♂ à la dose la plus élevée</li> <li>• ↘ dose dépendante de l'incidence des pneumopathies bactériennes</li> <li>• ↗ adénomes hypophysaires bénins significative dans un groupe recevant la dose intermédiaire et dans un groupe recevant la dose la plus élevée, (tylosine indirectement impliquée par l'augmentation du poids corporel et de la survie)</li> </ul>	<p>Résultats identiques dans les 2 réplicats</p> <p>Pas d'incidence sur les tumeurs malignes</p> <p>DSENO = 400 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></p>

### Toxicité pour la reproduction et le développement

Des études de reproduction sur plusieurs générations ont été menées chez la souris et le rat. Aucun effet indésirable n'a été constaté sur les indices de reproduction, la croissance et la survie de la progéniture. La DSENO est de 1 500 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> chez la souris et 500 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> chez les rats (Tableau VI - EMEA, 1997b; JECFA, 2009b).

Dans les études sur le développement, aucun effet n'a été rapporté à des doses atteignant 1000 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> chez la souris et 725 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> chez les rats (Tableau VI - EMEA, 1997b; JECFA, 2009b).

**Tableau VI. Études de reprotoxicité et toxicité sur le développement de la tylosine par voie orale (EMEA, 1997b; JECFA, 2009b).**

Espèce	Durée	Doses testées mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> <i>Effectif</i>	Voie administration	Effet toxique	Conclusions / Remarques
Rats albinos Harlan	2 ans <b>Étude de reprotoxicité*</b>	0, 100 et 10 000 mg.kg aliment <sup>-1</sup> <i>n = 5 ♂/dose et 10 ♀/dose</i>	alimentation	<ul style="list-style-type: none"> <li>pas d'effet sur les courbes de croissance et sur les indices de reproduction, de fertilité et de survie de la descendance ;</li> <li>⤴ de la survie chez les rats exposés à 10 000 mg.kg aliment<sup>-1</sup> (57% contre 29%).</li> <li>légère stéatose hépatique à 10 000 mg.kg aliment<sup>-1</sup>.</li> </ul>	DSENO = 5 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>  DSENO <sub>reprotox</sub> = 500 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>
Rats Wistar	<b>Étude de reprotoxicité<sup>a</sup></b>	0, 1 000, 5 000 et 10 000 mg.kg aliment <sup>-1</sup> <i>n = 25/sexe/dose</i>	alimentation	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pas d'effets sur la reproduction</li> <li>⤴ significative du nombre de globules blancs chez les ♂ à la plus forte dose mais reste dans la gamme normale</li> </ul>	DSENO = 635 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> (la plus élevée)
Souris ICR	<b>Étude de reprotoxicité<sup>b</sup></b>	0, 1 000, et 10 000 mg.kg aliment <sup>-1</sup> <i>n = 8 ♂/dose et 15 ♀/dose</i>	alimentation	<ul style="list-style-type: none"> <li>pas d'effet significatif sur la reproduction</li> </ul>	DSENO = 1 500 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> (la plus élevée)
Souris A/Jax ou CBA ♀	<b>Toxicité sur le développement</b> J7 à J12 de gestation	0, 100, 500 ou 1000 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> <i>n = 10/dose</i>	gavage	<ul style="list-style-type: none"> <li>pas d'effets observés sur la descendance ou sur la mère</li> </ul>	DSENO = 1 000 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>
Rats Wistar	<b>Toxicité sur le développement</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>De J0 à J20 de gestation</li> <li>De J0 de gestation à J21 après la naissance</li> </ul>	0, 60,5, 725 ou 480 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> <i>n = 15/dose</i>	alimentation	<ul style="list-style-type: none"> <li>pas d'effet sur la survie de la descendance, ni d'anomalie fœtale externe, viscérale ou squelettique</li> <li>À 480 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>, ⤴ poids corporel des mères les fœtus, et retard à l'ossification</li> <li>⤴ du gain de poids corporel de la progéniture à 480 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> </ul>	DSENO = 725 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>

<sup>a</sup> 10 semaine avant accouplement jusqu'à 6 semaines après accouchement

<sup>b</sup> Exposition en continue pendant 2 grossesses pour chaque génération

### 3.1.6. Module F : Détermination des valeurs toxicologiques de référence (VTR)

Les valeurs toxicologiques de référence (VTR) existantes pour la tylosine sont présentées dans le Tableau VII.

#### VTR établies par l'EMEA (1997b)

La tylosine rentre dans la composition de médicaments destinés aux espèces animales productrices de denrées destinées à la consommation humaine, des limites maximales de résidus (LMR) ont donc été définies (annexe II). Pour cela, une dose journalière acceptable (DJA) toxicologique et une DJA microbiologique ont été établies. Les DJA microbiologiques sont classiquement dérivées pour refléter l'impact potentiel des antibiotiques vétérinaires sur la flore intestinale humaine (EMEA, 2007 - annexe III).

Une DSENO de 50 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> issue d'une étude de toxicité de 1 an chez le rat conduit à **une DJA toxicologique de 500 µg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>** après application d'un facteur de sécurité de 100.

Conformément aux lignes directrices de l'EMA (2007), **une DJA microbiologique de 6,06 µg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>** a été calculée à partir des CMI<sub>50</sub>.

$$DJA_{\text{microbio}} = \frac{\text{CMI}_{\text{calculée}} \times \text{bolus fécal}}{\text{fraction dose orale biodisponible pour micro-organismes} \times \text{pc humain moyen}}$$

La DJA toxicologique étant plus élevée que la DJA microbiologique, c'est cette dernière fixée à **6 µg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>** qui a été utilisée pour établir les LMR.

**Tableau VII. Valeurs toxicologiques de référence par voie orale pour la tylosine.**

Source	VTR	Valeur	Population	Méthode	Effets critiques
EMA, 1997b	DJA tox	500 µg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Rats	DSENO + FI (100)	Modifications hématologiques
	<b>DJA microbiolo</b>	<b>6</b> µg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	<i>Lactobacillus</i> , <i>bifidobacterium</i> , <i>clostridium</i> , <i>bacteroides</i> , <i>peptostreptococcus</i> , <i>eubacterium</i> et <i>Enterococcus</i>	CMI adaptée	Effet microbiologique
JECFA, 2009b; JECFA, 2009a	DJA tox	1 000 µg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Chiens	DSENO + FI (100)	Toxicité rénale
	<b>DJA microbiolo</b>	<b>30</b> µg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	<i>Bacteroides fragilis</i> , autres <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Bifidobacterium spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i> <i>Eubacterium spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> et <i>Peptostreptococcus</i>	CMI adaptée	Effet microbiologique

VTR établies par le JECFA (2009a)

Le JECFA (2009a) a jugé que l'étude la plus pertinente pour déterminer une DSENO toxicologique est l'étude de toxicité sur 2 ans menée chez des chiens. À la DSENO de 100 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>, un facteur de sécurité de 100 a été appliqué. Par conséquent, **une DJA de 1 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>** a été établie sur la base des données toxicologiques.

Comme l'EMA, le JECFA a dérivé une DJA microbiologique pour refléter les effets potentiels de la tylosine sur la flore intestinale humaine. Cette DJA a été calculée à partir de la formule suivante :

$$DJA_{\text{microbio}} = \frac{\text{CMI}_{\text{calc}} \times \text{bolus fécal}}{\text{fraction dose orale biodisponible pour micro-organismes} \times \text{masse corporelle}}$$

Les valeurs de CMI<sub>90</sub> pour *Bacteroides fragilis*, autres *Bacteroides spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Enterococcus spp.*, *Eubacterium spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* et *Peptostreptococcus* ont été utilisés pour calculer la CMI<sub>calc</sub>. La DJA microbiologique obtenue est de **30 µg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>**.

Le JECFA considère que les effets microbiologiques sont plus pertinents que les effets toxicologiques pour l'établissement d'une DJA pour la tylosine, et par conséquent, il retient la DJA microbiologique de 30 µg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>.

### DJA retenue par le DWI, 2011

Dans son rapport sur les connaissances actuelles sur les médicaments vétérinaires dans l'eau potable et sur les estimations des niveaux potentiels, le Drinking Water Inspectorate (DWI) (2011) mentionne les DJA toxicologiques et microbiologiques établies par l'EMA et le FDA. Adoptant une démarche de précaution, le DWI retient la plus faible DJA existante à savoir la DJA microbiologique établie par l'EMEA (1996) de  $6 \mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$ .

### Sélection de la VTR

Bien que les DJA microbiologiques soient plus conservatrices que les DJA basées sur les études de toxicité chronique, les experts ont choisi de retenir ces dernières pour établir la DJT de la tylosine en vue de l'ERS liés à sa présence dans les EDCH. En effet, les DJA toxicologiques reposent sur des études de toxicité chronique par voie orale menées chez l'animal alors que les DJA microbiologiques ont été établies à partir de tests *in vitro*.

Parmi, les DJA existantes reposant sur des données toxicologiques, celle de  $500 \mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  établie par l'EMEA (1997b) à partir d'une étude chez le rat est la plus protectrice.

Retenant l'approche la plus protectrice, une **DJT de  $500 \mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$**  est utilisée pour la suite de l'ERS liés à la présence de tylosine dans les EDCH.

#### **3.1.7. Module G : Détermination d'une valeur guide (VG)**

Les VG dans les EDCH pour la tylosine sont calculées pour les adultes, les enfants et les nourrissons à partir des valeurs par défaut proposées dans la méthode d'ERS (Anses, 2013 - Tableau VIII).

**Tableau VIII. Résumé de la VTR et des VG pour la tylosine.**

Méthode de sélection de la VTR	Population	VTR ( $\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$ )	Masse corporelle ( $\text{kg}_{\text{pc}}$ )	Consommation journalière d'eau ( $\text{L.j}^{-1}$ )	Part de la DJA attribuable à l'eau	VG ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
<b>DJT toxicologique</b>	Adulte	500	60	2	20 %	3000
	Enfant		10	1	20 %	1000
	Nourrisson		5	0,75	20 %	667

Conformément à la méthode d'ERS (Anses, 2013), la VG retenue est la plus protectrice établie pour le scénario « nourrissons » de  **$667 \mu\text{g.L}^{-1}$** .

Dans le résumé du rapport sur les LMR étendues à toutes les espèces animales productrices de denrées alimentaires, l'EMA indique qu'avec les valeurs fixées pour les LMR, en Europe l'ingestion alimentaire quotidienne de tylosine ne devrait pas excéder 80 % de la DJA microbiologique de  $6 \mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  (EMEA, 2002b - annexe III).

#### **3.1.8. Module H : Évaluation des risques**

La marge de sécurité associée à la tylosine dans les EDCH, calculée avec l'exposition maximale journalière et la VG nourrissons établie à partir de la DJT est de :

$$MS_{\text{DJT}} = \frac{VG_{\text{DJT}}}{C_{\text{max}}} = \frac{667}{0,020} = 33\,350$$

Cette marge de sécurité est supérieure à 1. En l'état actuel des connaissances, le risque sanitaire lié à l'ingestion de tylosine dans les EDCH est considéré comme négligeable.

## 3.2. Florfénicol

### 3.2.1. Module A : Caractéristiques de la molécule

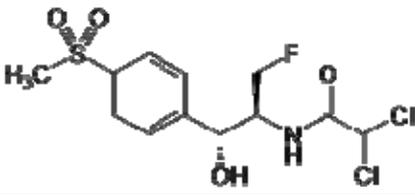
Le florfénicol est un antibiotique à large spectre, analogue du chloramphénicol. Il n'est utilisé qu'en médecine vétérinaire essentiellement pour le traitement des affections respiratoires des bovins et des porcins. Le Tableau IX présente la consommation de florfénicol en médecine vétérinaire en France entre 2008 et 2012.

Tableau IX. Consommation de florfénicol en France en médecine vétérinaire en tonnes de principe actif entre 2008 et 2012.

	2008	2009	2010	2011	2012
Florfénicol en tonnes	4,97	4,76	5,09	4,56	4,64

En Europe, il dispose d'AMM pour les bovins, les porcs et les poissons et de LMR pour les viandes et les abats chez toutes espèces productrices de denrées alimentaires (EMEA, 2002a - annexe IV).

Tableau X. Caractéristiques du florfénicol (INERIS, 2013a).

Paramètre	Valeur
Numéro CAS	73231-34-2
Formule	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> FNO <sub>4</sub> S
Formule développée	
Présentation	Antibiotique
Classe chimique	Phénicolé
Usage	Vétérinaire uniquement
Masse molaire	358,21 g.mol <sup>-1</sup>
Point de fusion	153,5 - 154,5°C
Solubilité dans l'eau	1,32 g.L <sup>-1</sup> à pH 7
pKa	9,03
Log K <sub>ow</sub>	0,37 (forme moléculaire) -0,1693
K <sub>oc</sub>	54,68 L.kg <sup>-1</sup>

### 3.2.2. Module B : Identification des métabolites pertinents

Aucune donnée de pharmacocinétique du florfénicol chez l'Homme n'a été recensée dans la littérature scientifique.

#### Pharmacocinétique chez l'animal

Les processus de biotransformation du florfénicol sont qualitativement semblables chez les bovins et les rats. Le foie est l'organe qui le concentre le plus, suivi du rein. Les mêmes métabolites ont été mis en évidence chez les bovins et chez les rats.

Les résidus de florfénicol sont majoritairement éliminés par les urines (50 % chez le rat, 67 % chez les bovins), puis par les fèces (30 % chez le rat et 9 % chez les bovins).

#### Identification des métabolites principaux chez l'animal

Deux voies de métabolisation ont été mises en évidence conduisant à un métabolite commun, la florfénicol amine (EMEA, 1996) :

- l'une principale via le florfénicol alcool, avec ou sans formation intermédiaire d'acide florfénicol oxamique ;
- l'autre mineur via le monochloroflorfénicol.

#### 3.2.3. Module C : Identification des produits de transformation pertinents du florfénicol

Aucune publication scientifique relative à l'élimination du florfénicol par adsorption sur charbon actif ou rapportant les réactions entre le florfénicol et l'ozone ou le chlore n'a été identifiée.

Dans des conditions de dégradation de laboratoire, la formation de deux produits de dégradation a été démontrée : la florfénicolamine et le thiamphénicol (Mistiri *et al.*, 2012).

Le florfénicol est stable à l'obscurité (Ge *et al.*, 2009). La photodégradation du florfénicol a été étudiée sous UV (200 - 290 nm) et sous lumière solaire simulée. Dans l'eau pure et sous lumière UV, le rendement quantique de phototransformation du florfénicol est évalué à  $0,029 \pm 0,001$ . Dans l'eau pure et sous lumière solaire simulée, le florfénicol ne se dégrade pas (Ge *et al.*, 2009). Dans une eau de surface (COT =  $125 \text{ mg.L}^{-1}$ , pH = 9,1), la photodégradation du florfénicol sous lumière solaire est efficace avec une durée de demi-vie évaluée à 100 h (Ge *et al.*, 2009). Plusieurs structures de produits de dégradation ont été proposées dans cette étude (Figure 2). Certaines structures ont néanmoins été identifiées dans des conditions s'éloignant de cas réels.

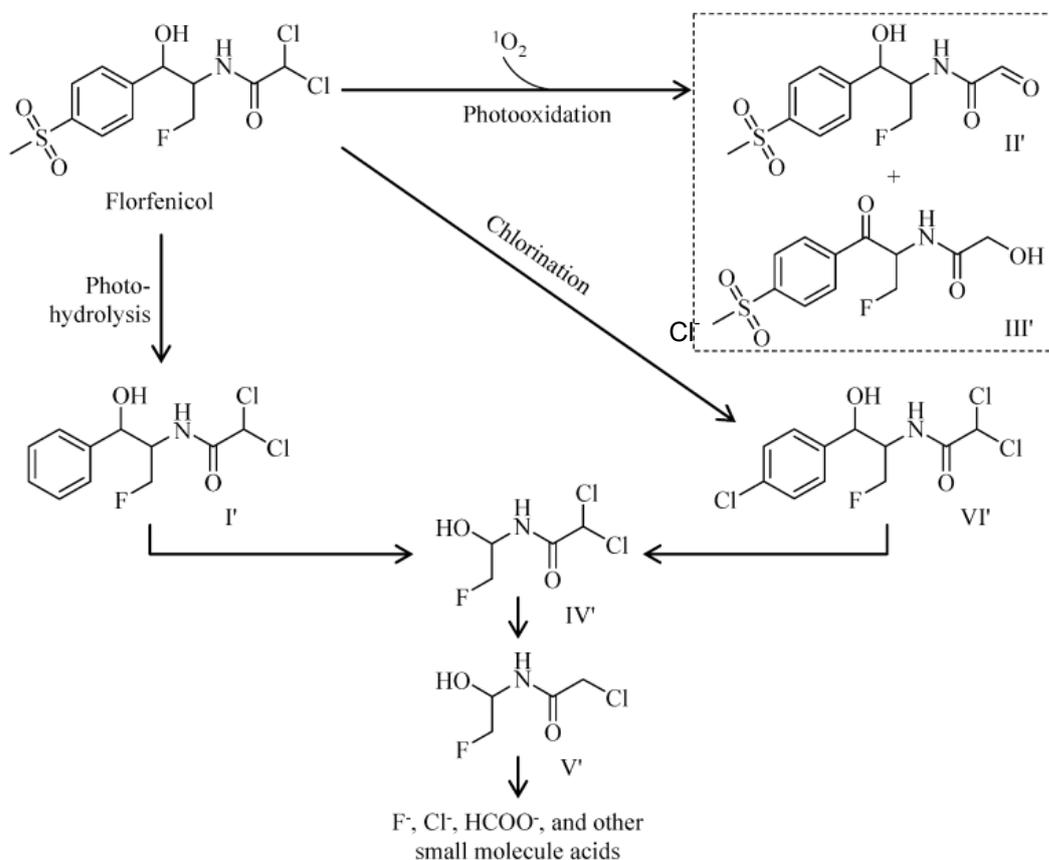


Figure 2. Propositions de voies de photodégradation du florfénicol sous UV-visible ( $\lambda > 200 \text{ nm}$ ) dans l'eau pure en laboratoire (Ge *et al.*, 2009).

### 3.2.4. Module D : Évaluation de l'exposition de l'Homme via l'EDCH

A notre connaissance, aucune publication scientifique ne permet de renseigner les concentrations en florfénicol dans les EDCH.

Au cours de la campagne nationale d'analyses des résidus de médicaments dans les EDCH, le LHN a recherché le florfénicol dans 255 échantillons d'eaux traitées prélevés sur l'ensemble du territoire français en 2011 (Anses, 2011). Une méthode multi-résidus par extraction sur phase solide et analyse par HPLC-MS-MS a été utilisée. La quantification du florfénicol est considérée comme indicative par le laboratoire. La limite de quantification est de 50 ng.L<sup>-1</sup>.

Le florfénicol a été détecté dans un échantillon d'EDCH et n'a jamais été quantifié (Tableau XI).

Tableau XI. Résultats de dosage du florfénicol dans des EDCH en France (Anses, 2011).

Molécules	n	Limite de détection (ng.L <sup>-1</sup> )	Limite de quantification (ng.L <sup>-1</sup> )	Fréquence de détection (> LoD en %)	Fréquence de quantification (> LoQ en %)	Teneur maximale (ng.L <sup>-1</sup> )
Florfénicol	255	15	50	0,4	0	Traces

Ces résultats donnent une image ponctuelle de la contamination des EDCH par le florfénicol en France. Afin de se placer dans la situation la plus défavorable, un scénario « pire-cas » a été retenu en considérant une exposition journalière à la limite de quantification, soit  $C_{max} = 50 \text{ ng.L}^{-1}$ .

### 3.2.5. Module E : Effets biologiques et cliniques

#### Mécanisme d'action

Le florfénicol est un inhibiteur spécifique de la protéosynthèse ARN-dépendante des cellules procaryotes en se fixant sur le site ribosomal de la peptidyltransferase (70S).

#### Propriétés microbiologiques

La sensibilité au florfénicol et à ses métabolites des souches bactériennes constituant la microflore intestinale humaine normale a été testée (EMEA, 1996). Le seul composé microbiologiquement actif est le florfénicol, l'activité de ses métabolites étant faible, voire nulle.

L'EMEA (1996) rapporte que *Fusobacterium sp* est le micro-organisme le plus sensible au florfénicol parmi 10 isolats de chacun des 10 genres représentatifs de la flore intestinale humaine testés. Sa CMI est de 0,36 µg.mL<sup>-1</sup>.

La FDA (2009) a utilisé les données de quinze études menées entre 1990 et 1993, aux États-Unis, en Europe et au Canada pour établir une base de données de CMI pour florfénicol sur les bactéries isolées chez des bovins. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de florfénicol déterminées pour les isolats de *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* et *Haemophilus somnus* sont présentés dans le Tableau XII.

Tableau XII. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de florfénicol contre les isolats provenant d'infections naturelles chez les bovins (FDA, 2009).

Organisme	N° d'isolats	CMI <sub>50</sub> (µg.mL <sup>-1</sup> )	CMI <sub>90</sub> (µg.mL <sup>-1</sup> )
<i>Pasteurella haemolytica</i>	398	0,5	1,0
<i>Pasteurella multocida</i>	350	0,5	0,5
<i>Haemophilus somnus</i>	66	0,25	0,5

### Toxicité aiguë

Aucune DL<sub>50</sub> n'a pu être établie pour le florfenicol administré par voie orale chez des souris ou des rats (DL<sub>50</sub> > 2 000 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>). Après administration par voie intrapéritonéale à des rats, la DL<sub>50</sub> est d'environ 2 000 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup> (EMEA, 1996).

### Toxicité à doses répétées

Les résultats disponibles des études de toxicité sub-chronique et chronique du florfenicol sont présentés dans le Tableau XIII.

**Tableau XIII. Études de toxicité du florfenicol à doses répétées par voie orale (EMEA, 1996; FDA, 2009).**

Espèce	Durée	Doses testées mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> <i>Effectif</i>	Voie administration	Effet toxique	Conclusions
Rats Sprague- Dawley	13 semaines	0, 10, 30 et 100 <i>n = 20/sexe/dose</i>	Gavage une fois par jour	<ul style="list-style-type: none"> <li>↘ irréversible du gain de poids à 100 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> surtout chez ♀</li> <li>• atrophie des tubes séminifères et ↘ du poids des testicules chez les ♂ recevant 100 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> </ul>	DSENO = 30 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>
Souris	13 semaines	0, 10, 50, 200 et 400	Gavage	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↗ du poids du foie à 400 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> </ul>	DSENO = 200 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>
Chiens Beagles	13 semaines	0, 10, 30 et 100 <i>n = 4/sexe/dose</i>	Capsule par voie orale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↗ du poids du foie, hypertrophie des hépatocytes et/ou vacuolisation hépatocellulaire à toutes les doses</li> <li>• Formation de vacuoles dans le SNC à 30 et 100 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> <li>• Dilatation des tubules rénaux chez les ♂ à 100 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> <li>• Atrophie testiculaire chez les ♂ à 100 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> <li>• Changements hématopoïétiques à 100 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> </ul>	DSENO toxicité hématopoïétique = 30 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>  Pas DSENO pour la toxicité hépatique
Chiens Beagles	13 semaines + 4 semaines récupération	0, 1, 3 et 12 <i>n = 4/sexe/dose</i>	Capsule par voie orale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↗ du poids du foie chez les ♂ à 12 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> sans altération des hépatocytes.</li> </ul>	DSENO = 3 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>
Chiens Beagles	52 semaines	0, 1, 3 et 12 <i>n = 4/sexe/dose</i>	Capsule par voie orale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↗ du poids du foie proportionnelle à la dose avec hyperplasie de la vésicule biliaire à partir de 3 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> (1 individu) et 12 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> <li>• raréfaction des hépatocytes chez les ♂ à 12 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup></li> </ul>	Pour l'EMEA : DSENO = 1 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>  Pour la FDA : DSENO = 3 mg.kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>

Des études de toxicité à doses répétées ont été menées chez des souris, des rats et des chiens. Les effets toxiques rapportés pour des rats sont principalement des changements dans les paramètres hématologiques et une atrophie des testicules. Pour les chiens, une augmentation du poids du foie a été observée.

À partir des mêmes études de toxicité, la FDA (2009) et l'EMEA (1996) retiennent parfois des DSENO légèrement différentes (Tableau XIII). Pour l'EMEA (1996), le chien est l'espèce la plus sensible avec une DSENO de 1 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup> pour une hépatotoxicité mise en évidence dans une étude sur 1 an. À partir de cette étude, la FDA (2009) a retenu une DSENO de 3 mg.kg<sub>pc</sub><sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>.

Mutagénicité et cancérogénicité

Plusieurs tests de génotoxicité du florfénicol ont été réalisés *in vitro* et *in vivo* :

- synthèse non programmée de l'ADN sur des hépatocytes de rat : peu ou pas de toxicité observée à des doses  $\leq 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$  ;
- test de mutation génique sur cellules de lymphome de souris - 1 : résultats équivoques ;
- test de mutation génique sur cellules de lymphome de souris - 2 : pas d'induction de mutation directe au locus TK des cellules de lymphome de souris L5178Y dans les conditions d'activation métabolique S9 utilisées dans l'étude ;
- Tests d'aberrations chromosomiques sur cellules d'ovaires de hamster chinois (CHO) : le florfénicol est clastogène à des doses toxiques et est capable d'induire une polyploïdie à des doses à la fois toxiques et non toxiques. Ces effets ont été observés uniquement lorsque le florfénicol a été testé en présence d'un système d'activation métabolique (S9) ;
- Test de cytogénèse *in vivo* sur moelle osseuse de souris : le florfénicol n'induit pas d'aberration chromosomique dans les deux conditions d'exposition aiguë et subchronique ;
- Tests des micronoyaux *in vivo* sur moelle osseuse de souris CD-1 : le florfénicol n'a pas d'effet clastogène jusqu'à  $5 \text{ g.kg}^{-1}$ .

À partir de ces éléments, l'EMEA (1996) et la FDA (2009) concluent que le florfénicol n'est pas génotoxique.

Aucune preuve de cancérogénicité n'a été observée lors d'études de cancérogénicité du florfénicol par voie orale sur 2 ans chez le rat ou la souris (Tableau XIV EMEA, 1996; FDA, 2009).

**Tableau XIV. Études de cancérogénicité du florfénicol par voie orale (EMEA, 1996; FDA, 2009).**

Espèce	Durée	Doses testées $\text{mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$ <i>Effectif</i>	Voie administration	Effet toxique	Conclusions
Rats Sprague- Dawley	104 semaines (cancéro) avec sacrifice d'une partie des animaux à 52 semaines	0, 3, 12 et 48 <i>n = 20/sexe/dose</i>	gavage	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\searrow</math> significative du gain de poids à <math>48 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}</math> chez les ♀</li> <li>• <math>\searrow</math> hématies à 12 et <math>48 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}</math></li> <li>• <math>\nearrow</math> nombre de testicules petits et flasques, <math>\nearrow</math> fréquence de cellules spermatogéniques libres dans l'épididyme et azoospermie complète, significatives uniquement à <math>48 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}</math></li> <li>• <math>\nearrow</math> atrophie de l'épithélium tubulaire testiculaire pour tous les groupes, gravité proportionnelle à la dose</li> <li>• induction de tumeurs bénignes des cellules interstitielles des testicules sans signe de malignité non proportionnelle à la dose avec quelques foyers d'hyperplasie à <math>48 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}</math></li> </ul>	<p>Le florfénicol n'est pas cancérogène chez le rat</p> <p>Pour l'EMA : pas de DSENO déterminée</p> <p>Pour la FDA : DSENO = <math>3 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}</math></p>
	104 semaines	0, 3, 12 et 48 <i>n = 50/sexe/dose</i>			

### Toxicité pour la reproduction et le développement

Des effets testiculaires non néoplasiques associés à l'administration répétée de florfenicol ont été constatés chez les trois espèces expérimentales testées (chien, rat et souris - Tableau XV). Les effets observés sont une diminution du poids des testicules devenant petits et flasques, une diminution de la masse de l'épididyme, une atrophie de l'épithélium tubulaire de gravité croissante avec les doses, une azoospermie et une augmentation du nombre de cellules spermatogéniques libres dans l'épididyme. Les DSENO associées étaient de  $100 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  chez la souris, de  $12 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  chez le chien et de  $3 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  chez le rat (EMEA, 1996; EMEA, 1997a; EMEA, 1999b; EMEA, 1999a; EMEA, 2000; EMEA, 2002a).

Pour la FDA (2009), les résultats d'études de reprotoxicité chez le rat (Tableau XV) montrent que l'exposition par voie orale au florfenicol a des effets néfastes sur le système reproducteur masculin avec une DSENO de  $1 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$ .

Le résumé de dossier de LMR (EMEA, 1996) mentionne plusieurs études de tératogénéicité réalisées chez des souris (0, 1, 3, 60  $\text{mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) et chez des rats (0, 4, 12, 40  $\text{mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ). Aux doses élevées, le florfenicol induit des effets maternotoxiques et des retards à l'ossification. Les DSENO pour la maternotoxicité sont de  $3 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  chez les souris et de  $4 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  chez les rats. Le florfenicol n'induit aucun effet malformatif quelle que soit la dose testée (EMEA, 1996). Une embryotoxicité, sous la forme d'une diminution du poids fœtal et d'un retard à l'ossification, n'a été observée qu'à des doses induisant une toxicité maternelle (FDA, 2009). Enfin, une diminution des indices de viabilité, de survie globale et de lactation est mentionnée avec une DSENO de  $1 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  pour le faible indice de viabilité (FDA, 2009).

**Tableau XV. Études de reprotoxicité et de toxicité sur le développement du florfenicol par voie orale (EMEA, 1996; FDA, 2009).**

Espèce	Durée	Doses testées $\text{mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$ <i>Effectif</i>	Voie administration	Effet toxique	Conclusions
Rats Sprague- Dawley	Reprotoxicité sur 2 générations*	0, 1, 3 et 12 <i>n = 20/sexe/dose</i>	gavage	<ul style="list-style-type: none"> <li>↘ poids de l'épididyme chez les ♂ F0 et F1</li> <li>Chez les petits F2b : faible indice de viabilité et faible indice de survie globale à tous les dosages, faible indice de lactation à 3 et 12 <math>\text{mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}</math>.</li> </ul>	Pour l'EMEA : DSENO = $3 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  Pour la FDA : DSENO = $1 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$
Rats Sprague- Dawley ♀	Tératogénéicité 12 jours de J6 à J17 de gestation	0, 4, 12 et 40 <i>n = 26 ♀/dose</i>	gavage	<ul style="list-style-type: none"> <li>↘ consommation de nourriture et d'eau chez les mères à 12 et 40 <math>\text{mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}</math></li> <li>↘ poids fœtal et retard à l'ossification à 12 ou 40 <math>\text{mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}</math></li> </ul>	DSENO = $4 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  Pas de tératogénéicité liée au traitement

\* Exposition des parents F0 : pour les 2 sexes, quotidienne pendant 10 semaines avant l'accouplement, pendant l'accouplement, la gestation et la lactation pour deux portées successives. Exposition des parents F1 : quotidienne à partir de 25 jours environ puis pendant environ 15 à 17 semaines avant l'accouplement et pendant l'accouplement, la gestation et la lactation pour deux portées successives.

### **3.2.6. Module F : Détermination des valeurs toxicologiques de référence (VTR)**

Les VTR existantes pour le florfenicol sont présentées dans le Tableau XVI.

#### VTR établies par l'EMEA (1996)

Le florfenicol rentre dans la composition de médicaments destinés aux espèces animales productrices de denrées destinées à la consommation humaine, des LMR ont donc été définies

(EMA, 1996; EMA, 1997a; EMA, 1999b; EMA, 1999a; EMA, 2000; EMA, 2002a - annexe VI). Pour cela, deux DJA ont été calculées sur la base des effets toxicologiques d'une part, et des effets microbiologiques d'autre part. Les DJA microbiologiques sont classiquement dérivées pour refléter l'impact potentiel des antibiotiques vétérinaires sur la flore intestinale humaine (EMA, 2007 - annexe III).

Conformément aux lignes directrices de l'EMA (2007), une DSENO de  $1 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  pour des effets hépatiques issue d'une étude sur des chiens exposés par voie orale pendant 52 semaines conduit à une **DJA toxicologique de  $10 \text{ }\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$**  après application d'un facteur de sécurité de 100 (EMA, 1996).

Sur la base de la CMI pour le micro-organisme le plus sensible ( $0,36 \text{ }\mu\text{g.ml}^{-1}$  pour *Fusobacterium sp*), une **DJA microbiologique de  $3 \text{ }\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$**  a été calculée (EMA, 1996) sur la base de l'équation suivante :

$$\text{DJA microbio} = \frac{\text{CMI} \times \text{bolus fécal}}{\text{fraction dose orale biodisponible pour micro-organismes} \times \text{pc humain moyen}}$$

La DJA toxicologique étant plus élevée que la DJA microbiologique, c'est cette dernière qui a été utilisée pour établir les LMR.

**Tableau XVI. Valeurs toxicologiques de référence par voie orale pour le florfenicol.**

Source	VTR	Valeur	Population	Méthode	Effets critiques
EMA, 1996	DJA tox	$10 \text{ }\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$	chiens	DSENO + FI (100)	Hépatotoxicité
	DJA microbio	$3 \text{ }\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$	Flore intestinale humaine	CMI adaptée	Effet sur la flore gastro-intestinale
FDA, 2009	DJA	$10 \text{ }\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$	rats	DSENO + FI (100)	Effets sur le système reproducteur mâle
Commonwealth of Australia, 2005	DJA	$1 \text{ }\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$	chiens	DSENO + FI (1000)	Hépatotoxicité

VTR établie par la FDA (2009)

La DJA établie par la FDA pour le florfenicol est basée sur la DSENO de  $1 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  provenant de l'étude de reproduction sur deux générations chez les rats, à laquelle un facteur de sécurité de 100 est appliqué (10 pour la variabilité interspécifique et 10 pour la variabilité intraspécifique). Une **DJA de  $10 \text{ }\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$**  est obtenue.

VTR établie par le Commonwealth of Australia (2005)

Le Commonwealth of Australia (2005) mentionne une DJA de  $1 \text{ }\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  pour le florfenicol, établie à partir d'une DSENO de  $1 \text{ mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  issue de l'étude de toxicité par voie orale de 12 mois chez le chien pour l'augmentation du poids du foie et l'hyperplasie épithéliale kystique de la vésicule biliaire. Un facteur d'incertitude de 1000 a été appliqué à cette DSENO :

- 10 pour la variabilité interspécifique,
- 10 pour la variabilité intraspécifique,
- 10 pour l'absence de DSENO observée lors de l'étude de cancérogénèse par voie orale de deux ans chez le rat (Tableau XIV).

VTR retenue par le DWI (2011)

Dans son rapport sur les connaissances actuelles sur les médicaments vétérinaires dans l'eau potable et sur les estimations des niveaux potentiels, le DWI (2011) mentionne les DJA toxicologiques et microbiologiques établies par l'EMA et la FDA.

En première intention, le DWI utilise la plus faible DJA recensée, c'est-à-dire la DJA microbiologique, mais remarque que l'application de la DJA toxicologique peut fournir une base plus réaliste à des fins d'évaluation des risques sanitaires.

### Sélection de la VTR

Comme pour la tylosine, les experts ont choisi d'utiliser les DJA établies à partir de données toxicologiques chez l'animal plutôt qu'une DJA microbiologique basée sur des tests *in vitro*.

Dans le cas du florfenicol, la DJA microbiologique est du même ordre de grandeur que les DJA toxicologiques.

Les DJA existantes reposant sur des données toxicologiques sont comprises entre 1 et 10  $\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  et sont établies à partir d'une DSENO de 1  $\text{mg.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$  pour l'hépatotoxicité chez le chien (EMEA, 1996; Commonwealth of Australia, 2005) ou pour des effets sur le système reproducteur mâles chez le rat (FDA, 2009). La DJA la plus protectrice est celle établie par le Commonwealth of Australia (2005) qui utilise un facteur d'incertitude de 1000.

Retenant l'approche la plus protectrice, une **DJT de 1  $\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$**  est utilisée pour la suite de l'ERS liés à la présence de florfenicol dans les EDCH.

### **3.2.7. Module G : Détermination d'une valeur guide (VG)**

La VG pour le florfenicol dans les EDCH est calculée pour les adultes, les enfants et les nourrissons à partir des valeurs par défaut proposées dans la méthode d'ERS (Anses, 2013 - Tableau XVII).

**Tableau XVII. Résumé de la VTR et des VG pour le florfenicol.**

Méthode de sélection de la VTR	Population	VTR ( $\mu\text{g.kg}_{\text{pc}}^{-1}.\text{j}^{-1}$ )	Masse corporelle ( $\text{kg}_{\text{pc}}$ )	Consommation journalière d'eau ( $\text{L.j}^{-1}$ )	Part de la DJA attribuable à l'eau	VG ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
DJT toxicologique	Adulte	1	60	2	20 %	6
	Enfant		10	1	20 %	2
	Nourrisson		5	0,75	20 %	1,3

Conformément à la méthode d'ERS (Anses, 2013), la VG retenue pour l'ERS est la plus protectrice, soit celle établie pour le scénario « nourrissons » de **1,3  $\mu\text{g.L}^{-1}$** .

Dans le résumé du rapport sur les LMR étendues à toutes les espèces animales productrices de denrées alimentaires, l'EMA indique qu'avec les valeurs fixées pour les LMR, en Europe, l'ingestion alimentaire quotidienne de florfenicol ne devrait pas excéder 10 % de la DJA microbiologique (EMEA, 2002a - annexe III).

### **3.2.8. Module H : Évaluation des risques**

La marge de sécurité associée à la présence de florfenicol dans les EDCH, calculée avec la concentration maximale mesurée lors de la campagne nationale du LHN et la VG nourrissons établie à partir de la DJT est de :

$$MS_{\text{DJT}} = \frac{VG_{\text{DJT}}}{C_{\text{max}}} = \frac{1,3}{0,050} = 26$$

Cette marge de sécurité est supérieure à 1. En l'état actuel des connaissances, le risque sanitaire lié à l'ingestion de florfenicol dans les EDCH est considéré comme négligeable.

Dans son rapport sur les connaissances actuelles sur les médicaments vétérinaires dans l'eau potable et sur les estimations des niveaux potentiels, le DWI (2011) estime que l'apport total

prévisionnel de florfenicol dans les eaux souterraines et les eaux de surface dans les zones drainées est bien supérieur à 10 % de la DJA microbiologique. Le DWI (2011) conclut qu'une évaluation plus détaillée de l'exposition et de la toxicité éventuelle du florfenicol peut être justifiée, en particulier pour les jeunes enfants et les nourrissons.

### **3.3. Conclusions**

Les évaluations de risques sanitaires menées à partir des connaissances actuelles concluent à un risque sanitaire négligeable lié à la présence de tylosine ou de florfenicol dans les eaux destinées à la consommation humaine.

## **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail adopte les conclusions du CES « Eaux ».

Le risque sanitaire lié à l'ingestion *via* les EDCH de médicaments est évalué molécule par molécule. S'agissant de la tylosine ou du florfenicol, deux médicaments utilisés uniquement en médecine vétérinaire étudiés dans le cadre de cette expertise, le risque est jugé négligeable au regard des données d'exposition et toxicologiques disponibles. L'Agence rappelle que l'évaluation des risques des effets éventuels des mélanges de substances à faible dose n'a pas été prise en compte dans l'attente du développement de méthodologies appropriées et de recherches spécifiques.

Marc Mortureux

## **MOTS-CLES**

Résidus de médicaments – eaux destinées à la consommation humaine - tylosine – florfenicol – évaluation des risques sanitaires

**BIBLIOGRAPHIE**

Afssa (2008) Hiérarchisation des résidus de médicaments d'intérêt pour l'analyse des ressources et des eaux traitées. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Maisons-Alfort. Disponible sous [www.anses.fr](http://www.anses.fr).

Afssa (2010) Résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine : Volet méthodologie générale d'évaluation de l'exposition de l'Homme aux résidus de médicaments via l'eau destinée à la consommation humaine. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Maisons-Alfort. Disponible sous [www.anses.fr](http://www.anses.fr).

Anses (2011) Campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine. Agence nationale de sécurité sanitaire, Maisons-Alfort. Disponible sous <http://www.anses.fr/sites/default/files/documents/LABO-Ra-EtudeMedicamentsEaux.pdf>.

Anses (2013) Évaluation des risques sanitaires liés à la présence de résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine : méthode générale et application à la carbamazépine et à la danofloxacin. Agence nationale de sécurité sanitaire, No. 2009-SA-0210, Maisons-Alfort. Disponible sous <http://www.anses.fr/sites/default/files/documents/LABO-Ra-EtudeMedicamentsEaux.pdf>.

Beausse J (2004) Selected drugs in solid matrices: A review of environmental occurrence, determination and properties of principal substances. Horizontal-DS-26 Pharmaceuticals, 1-36.

Chamberlain E et Adams C (2006) Oxidation of sulfonamides, macrolides, and carbadox with free chlorine and monochloramine. *Water Research* 40(13), 2517-2526.

Commonwealth of Australia (2005) Acceptable daily intakes for agricultural and veterinary chemicals: current as of 30 June 2013. No. ISSN 1446-1412. Disponible sous [http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/6279C451E3D11E89CA257BF0001DAAE7/\\$File/ADI-June2013.pdf](http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/6279C451E3D11E89CA257BF0001DAAE7/$File/ADI-June2013.pdf).

Dodd MC, Buffle M-O et von Gunten U (2006) Oxidation of Antibacterial Molecules by Aqueous Ozone: Moiety-Specific Reaction Kinetics and Application to Ozone-Based Wastewater Treatment. *Environmental Science & Technology* 40(6), 1969-1977.

DWI (2011) Desk-based study of current knowledge on veterinary medicines in drinking water and estimation of potential levels. Drinking water inspectorate, No. 70/2/235 Disponible sous <http://dwi.defra.gov.uk/research/completed-research/reports/dwi70-2-235.pdf>.

EMA (1996) Committee for veterinary medicinal products - Florfenicol - summary report (1). European Medicines Agency, Londres. Disponible sous [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500014274.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014274.pdf).

EMA (1997a) Committee for veterinary medicinal products - Florfenicol (extension to fish) - summary report (2). European Medicines Agency, No. EMA/MRL/251/97-FINAL, Londres. Disponible sous [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500014279.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014279.pdf).

EMA (1997b) Committee for veterinary medicinal products - Tylosin - summary report (3). European Medicines Agency, No. EMA/MRL/205/97-FINAL, Londres. Disponible sous [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500015764.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500015764.pdf).

EMA (1999a) Committee for veterinary medicinal products - Florfenicol (extension to chicken) - summary report (3). European Medicines Agency, No. EMA/MRL/589/99-FINAL, Londres. Disponible sous [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500014277.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014277.pdf).

EMA (1999b) Committee for veterinary medicinal products - Florfenicol (extension to pigs) - summary report (4). European Medicines Agency, No. EMA/MRL/591/99-FINAL, Londres. Disponible sous [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500014281.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014281.pdf).

EMA (2000) Committee for veterinary medicinal products - Florfenicol (extension to fish) - summary report (5). European Medicines Agency, No. EMA/MRL/760/00-FINAL, Londres. Disponible sous [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500014280.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014280.pdf).

- EMA (2002a) Committee for veterinary medicinal products - Florfenicol (extension to all food producing species) - Summary report (6). European Medicines Agency, No. EMA/MRL/822/02-FINAL, Londres. Disponible sous [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500014282.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014282.pdf).
- EMA (2002b) Committee for veterinary medicinal products - Tylosin (extension to all food producing species) - summary report (5). European Medicines Agency, No. EMA/MRL/829/02-FINAL, Londres. Disponible sous [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500015767.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500015767.pdf).
- EMA (2007) Studies to evaluate the safety of residues of veterinary drugs in human food: general approach to establish a microbiological ADI. European Medicines Agency, No. CVMP/VICH/467/03-FINAL-corr, Londres, UK. Disponible sous [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/10/WC500004537.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004537.pdf).
- FDA (2009) NADA 141-063 NUFLOLOR® Injectable Solution - original approval. Disponible sous <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/Products/approvedAnimalDrugProducts/FOIADrugSummaries/ucm116713.htm> (consulté le 24/09/2013)
- Ge L, Chen J, Qiao X, Lin J et Cai X (2009) Light-Source-Dependent Effects of Main Water Constituents on Photodegradation of Phenicol Antibiotics: Mechanism and Kinetics. *Environmental Science & Technology* 43(9), 3101-3107.
- Hu D et Coats JR (2007) Aerobic degradation and photolysis of tylosin in water and soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26(5), 884-889.
- INERIS (2013a) Florfenicol. (Portail substances chimiques) Disponible sous <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/3135> (consulté le 08/11/2013)
- INERIS (2013b) Tylosine. (Portail substances chimiques) Disponible sous <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/3018> (consulté le 08/11/2013)
- JECFA (2009a) Evaluation of certain veterinary drug residues in food - Seventieth report of the Joint FAO/OMS Expert Committee on Food Additives. Vol. 954. Ed. OMS) pp. 144: Genève, Suisse)
- JECFA (2009b) Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. Vol. 61. Ed. OMS): Genève, Suisse)
- Leung HW, Jin L, Wei S, Tsui MMP, Zhou B, Jiao L, Cheung PC, Chun YK, Murphy MB et Lam PKS (2013) Pharmaceuticals in tap water: Human health risk assessment and proposed monitoring framework in China. *Environmental Health Perspectives* 121(7), 839-846.
- Liu F, Ying G-G, Yang J-F, Zhou L-J, Tao R, Wang L, Zhang L-J et Peng P-A (2010) Dissipation of sulfamethoxazole, trimethoprim and tylosin in a soil under aerobic and anoxic conditions. *Environmental Chemistry* 7(4), 370-376.
- McFarland JW, Berger CM, Froshauer SA, Hayashi SF, Hecker SJ, Jaynes BH, Jefson MR, Kamicker BJ, Lipinski CA, Lundy KM, Reese CP et Vu CB (1997) Quantitative Structure-Activity Relationships among Macrolide Antibacterial Agents: In Vitro and in Vivo Potency against *Pasteurella multocida*. *Journal of Medicinal Chemistry* 40(9), 1340-1346.
- Mistiri F, Louati K, Grissa O, Kallel M et Safta F (2012) Study of forced degradation behaviour of florfenicol by LC and LC-MS and development of a validated stability-indicating assay method. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 70(6), 333-347.
- Paesen J, Cypers W, Busson R, Roets E et Hoogmartens J (1995) Isolation of decomposition products of tylosin using liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 699(1-2), 99-106.
- Rabolle M et Spliid NH (2000) Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. *Chemosphere* 40(7), 715-22.
- Sassman SA, Sarmah AK et Lee LS (2007) Sorption of tylosin A, D, and A-aldol and degradation of tylosin in soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26(8), 1629-1635.
- SRC (2011) Tylosin. Disponible sous <http://www.syrres.com/what-we-do/databaseforms.aspx?id=386> (consulté le 10/07/2013)
- Wang C, Shi H, Adams CD, Gamagedara S, Stayton I, Timmons T et Ma Y (2011) Investigation of pharmaceuticals in Missouri natural and drinking water using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Water Research* 45(4), 1818-1828.

## **SIGLES ET ABREVIATIONS**

AMM : Autorisation de mise sur le marché  
ANMV : Agence nationale du médicament vétérinaire (Anses)  
Anses (issue de la fusion de l'Afssa et de l'Afsset, le 01/07/2010) : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail  
Ansm (Afssaps jusqu'au 30/04/2012) : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé  
ARS : Agence régionale de santé  
CES : Comité d'experts spécialisé  
CMI : Concentration minimale inhibitrice  
DGS : Direction générale de la santé  
DJA : Dose journalière admissible  
DJT : Dose journalière tolérable  
DMENO : Dose minimale avec effet nocif observé  
DL<sub>50</sub> : Dose létale 50  
DSENO : Dose sans effet nocif observé  
EDCH : Eau destinée à la consommation humaine  
EMA (anciennement EMEA) : Agence européenne du médicament  
ERS : Évaluation des risques sanitaires  
FAO : Food and agriculture organization of the United Nations  
FDA : Food and drug administration (USA)  
FI : Facteur d'incertitude  
GT : Groupe de Travail  
JECFA : Comité d'experts sur les additifs alimentaires (OMS et FAO)  
LoD : Limite de détection  
LHN : Laboratoire d'hydrologie de Nancy (Anses)  
LMR : Limite maximale de résidus  
LoQ : Limite de quantification  
OMS : Organisation mondiale de la santé  
QD : Quotient de danger  
TTC : Seuil de préoccupation toxicologique (Threshold of Toxicological Concern)  
VG : Valeur guide  
VTR : Valeur toxicologique de référence

## **ANNEXE(S)**

### **Annexe I - PRESENTATION DES INTERVENANTS**

#### **Rapporteurs**

M. Michel JOYEUX - Toxicologie de l'environnement, évaluation des risques sanitaires  
M. Patrick MAZELLIER - Chimie analytique, réactions de photodégradation et d'oxydation

#### **Groupe de travail**

##### Président

M. Michel JOYEUX - Toxicologie de l'environnement, évaluation des risques sanitaires

##### Membres

M. Pierre-Jean CABILLIC - Contrôle sanitaire des EDCH, réglementation  
M. Edmond CREPPY - Toxicologie, cancérogénèse  
M. Joseph DE LAAT - Procédés de traitement des EDCH (oxydation), chimie de l'eau  
Mme Laetitia KNOCKAERT - Toxicologie, pharmacologie  
M. Patrick LEVALLOIS - Épidémiologie, santé environnement, EDCH  
M. Jean-Michel MAIXENT - Biochimie  
M. Christophe ROSIN - Chimie analytique, contrôle sanitaire des EDCH  
Mme Marie-Pierre SAUVANT-ROCHAT - Santé publique, épidémiologie  
Mme Bénédicte WELTÉ - Traitement de l'EDCH, chimie de l'eau

#### **Participation Anses**

##### Coordination scientifique

Mme Morgane BACHELOT - Unité d'évaluation des risques liés à l'eau - Direction de l'évaluation des risques - Anses

##### Contribution scientifique

M. Thierry GODARD - Département AMM - Unité d'évaluation des médicaments vétérinaires chimiques - ANMV - Anses  
Mme Agnès PERRIN-GUYOMARD - Unité Antibiotiques, biocides, résidus et résistance - Laboratoire de Fougères - Anses  
Mme Pascale PANETIER - Chef de l'unité d'évaluation des risques liés à l'eau - Direction de l'évaluation des risques - Anses

##### Secrétariat administratif

Mme Christine LECAREUX - Direction de l'évaluation des risques - Anses

**Annexe II - LIMITE MAXIMALE DE RESIDU POUR LA TYLOSINE**

Les limites maximales de résidus pour la tylosine sont présentés dans le Tableau XVIII (EMEA, 2002b).

**Tableau XVIII : Dose journalière admissible et limites maximales de résidus pour la tylosine (EMEA, 2002b)**

DJA = 6 µg/kg		
Espèce animale	LMR en µg.kg <sup>-1</sup>	Denrées cibles
Toutes les espèces productrices d'aliments	100	Muscle*
	100	Graisse**
	100	Foie
	100	Reins
	50	Lait
	200	Œufs

\*Pour les poissons, cette LMR concerne « muscles et peau dans des proportions naturelles »

\*\*Pour les porcins et les volailles, cette LMR concerne « peau et graisse dans des proportions naturelles »

L'EMEA (2002b) estime que l'extension des LMR à toutes les espèces productrices de denrées alimentaires, comme résumé dans le Tableau XVIII, se traduirait par une exposition des consommateurs ne dépassant pas 80 % de la DJA.

### Annexe III - DJA MICROBIOLOGIQUE (EMEA, 2007)

En 1990, le conseil européen recommandait que les effets microbiologiques des résidus sur le microbiote intestinal humain (MIH) soient pris en compte dans l'établissement des LMR des antibiotiques utilisés en élevage. En 1994, l'EMEA et le CVMP adoptaient une ligne directrice incluant les données de CMI pour la détermination de la dose journalière admissible d'un antibiotique à dose résiduelle dans les denrées d'origine animale. De leur côté, les américains rédigeaient en 1996, un guide (document 52) « Microbiological testing of antimicrobials drug residues in food » dans lequel il était établi qu'en dessous d'un certain seuil, les résidus d'antibiotiques, microbiologiquement actifs, ne provoquaient pas d'effets néfastes sur le MIH. Depuis, le VICH a établi un document (GL36) présentant une approche générale pour l'établissement d'une dose microbiologique sans effet dans le cadre de la sécurité des résidus d'antibiotiques vétérinaires dans les aliments à destination humaine. Cette ligne directrice propose d'étudier les effets des résidus d'antibiotiques sur l'apparition de résistance et l'inhibition de l'effet barrière du MIH, et de déduire une dose microbiologique sans effet, au même titre que la dose toxicologique sans effet. Ces effets peuvent être définis *in vitro*, comme *in vivo* à l'aide de modèles expérimentaux utilisant des rongeurs à flore intestinale humaine.

Ces DJA microbiologiques sont dérivées en raison du rôle important de la flore intestinale sur le maintien et la protection de la santé des individus. Cette flore fournit des fonctions importantes à l'hôte telles que :

- la métabolisation des composés endogènes et exogènes et des composants alimentaires ;
- la production de composés qui sont ensuite absorbés ;
- la protection contre l'invasion et la colonisation par des micro-organismes pathogènes.

L'ingestion de médicaments antimicrobiens peut potentiellement altérer l'écologie de la flore intestinale. L'activité des résidus d'antibiotiques peut provoquer la mort de certaines bactéries ou diminuer leur aptitude à proliférer dans l'intestin : vitesse de croissance diminuée, affinité pour un substrat nutritionnel diminuée ou adhésion diminuée. Ils peuvent atteindre le côlon après une absorption incomplète ou être absorbé, distribué puis excrété via la bile ou sécrété par la muqueuse intestinale.

Les critères microbiologiques des préoccupations actuelles de santé publique qui sont considérés lors de l'établissement d'une DJA microbiologique sont les suivants:

- Rupture de l'effet barrière de la flore endogène : La barrière à la colonisation est une fonction de la flore intestinale normale qui limite la colonisation du côlon par des micro-organismes exogènes, ainsi que la prolifération des micro-organismes autochtones potentiellement pathogènes. La capacité de certains médicaments antimicrobiens à perturber cette barrière est bien établie et connue pour avoir des conséquences sur la santé humaine.
- Sélection de bactéries résistantes au sein de l'écosystème digestif : Une bactérie résistante aux antibiotiques peut être sélectionnée par un résidu d'antibiotique, soit directement par l'élimination de la bactérie sensible correspondante, soit indirectement par l'affaiblissement des barrières. Cet effet peut être dû soit à l'acquisition de la résistance par des organismes qui étaient auparavant sensibles soit à une augmentation relative de la proportion d'organismes déjà moins sensibles. Une revue de la littérature n'a pas mis en évidence d'effets sur la santé humaine suite à des modifications de la proportion de bactéries résistantes dans flore intestinale humaine. Toutefois, de tels effets ne peuvent être exclus.

#### Annexe IV - LIMITE MAXIMALE DE RESIDUS POUR LE FLORFENICOL

Les limites maximales de résidus pour le florfenicol sont fixées pour la somme du florfenicol et de ses métabolites mesurée sous florfenicol amine. Les LMR existantes sont présentées dans le Tableau XIX (EMEA, 2002a).

**Tableau XIX : Dose journalière admissible et limites maximales de résidus pour le florfenicol et ses métabolites mesurés sous florfenicol amine.**

DJA = 3 µg/kg <sub>pc</sub> <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>		
Espèce animale	Denrées cibles	LMR en µg.kg <sup>-1</sup>
Bovins, ovins, caprins*	Muscle	200
	Foie	3 000
	Reins	300
Porcins	Muscle	300
	Peau + graisse	500
	Foie	2 000
	Reins	500
Volailles**	Muscle	100
	Peau + graisse	200
	Foie	2 500
	Reins	750
Poissons	Muscle et peau dans des proportions naturelles	1 000
Toutes les espèces productrices d'aliments à l'exception des bovins, ovins, caprins, porcins, volailles et poissons	Muscle	100
	Graisse	200
	Foie	2 000
	Reins	300

\*L'utilisation est interdite pour les animaux dont le lait est utilisé pour la consommation humaine

\*\*L'utilisation est interdite pour les animaux dont les œufs sont utilisés pour la consommation humaine

L'EMEA (2002a) a estimé que l'extension des LMR à toutes les espèces productrices de denrées alimentaires, comme résumé dans le Tableau XIX, se traduirait par une exposition des consommateurs ne dépassant pas 100 % de la DJA toxicologique et 10 % de la DJA microbiologique.