

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL PIEMONTE ORIENTALE

“AMEDEO AVOGADRO”

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Corso di Laurea Magistrale in Farmacia

TESI DI LAUREA

Antiparassitari negli animali DPA e NDPA in un’ottica One Health

Relatore

Prof.ssa Silvia Morel

Candidato

Carlotta Acuto

Anno Accademico 2025-2026

Sessione estiva

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL PIEMONTE ORIENTALE

“AMEDEO AVOGADRO”

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Corso di Laurea Magistrale in Farmacia

TESI DI LAUREA

Antiparassitari negli animali DPA e NDPA in un’ottica One Health

Relatore

Prof.ssa Silvia Morel

Candidato

Carlotta Acuto

Anno Accademico 2025-2026

Sessione estiva

a C.

INDICE

INTRODUZIONE.....	1
1. ECTOPARASSITI NEGLI ANIMALI DPA E NDPA.....	3
2. PRINCIPI ATTIVI.....	10
3. FORMULAZIONI PER IL TRATTAMENTO DEGLI ECTOPARASSITI.....	19
3.1 FORMULAZIONI PER ANIMALI DPA.....	19
3.1.1 Preparazioni per applicazione cutanea.....	19
3.1.2 Preparazioni a uso orale.....	26
3.1.3 Preparazioni a uso parenterale.....	29
3.2 FORMULAZIONI PER ANIMALI NDPA.....	32
3.2.1 Preparazioni per applicazione cutanea.....	32
3.2.2 Preparazioni a uso orale.....	36
3.2.3 Preparazioni a uso parenterale.....	37
4. ECTOPARASSITICIDI E SICUREZZA ALIMENTARE.....	39
5. ECTOPARASSITICIDI E IMPATTO AMBIENTALE.....	58
5.1 ANIMALI DPA.....	58
5.2 ANIMALI NDPA.....	68
CONCLUSIONE.....	72
LISTA ABBREVIAZIONI.....	75
BIBLIOGRAFIA.....	76

INTRODUZIONE

Le infestazioni parassitarie sono tra le malattie che impattano maggiormente, sia a livello sanitario sia economico, sugli animali e sull'uomo. In particolare, i parassiti che vivono sulla superficie esterna del corpo, detti ectoparassiti, oltre ad essere altamente fastidiosi, causano lesioni cutanee e danni traumatici riducendo il benessere animale e la produttività degli allevamenti. Inoltre, gli ectoparassiti possono veicolare batteri, virus e parassiti interni o endoparassiti, come protozoi e nematodi, responsabili di gravi malattie zoonotiche cioè trasmissibili all'uomo e per le quali gli animali possono fungere da serbatoi naturali, come ad esempio la borreliosi, il West Nile virus, la leishmaniosi e la filariosi.

Inoltre, i cambiamenti climatici, i fenomeni migratori umani e animali, e le alterazioni delle aree verdi periurbane concorrono a una rapida diffusione dei parassiti vettori, col rischio che i territori nei quali le malattie sono considerate endemiche si espandano. Per questo motivo, in Italia, come in altri Stati endemici, è obbligatoria la notifica dei casi di leishmaniosi umana e canina, in modo da monitorare la diffusione della malattia e consentire una rapida adozione di misure preventive basate sull'impiego di antiparassitari [1].

Gli antiparassitari sono infatti la seconda categoria di medicinali veterinari più venduta al mondo, di questi il 67% è destinata ai cani e ai gatti, il 19 % ai bovini, il 6% agli ovini, il 6% ai suini e il 2% al pollame. Il loro mercato, solo in Europa, ammonta ad un valore di quasi 2 miliardi di euro, in particolare sono gli ectoparassiticidi a totalizzare il maggior numero di vendite, pari al 60%, contro il 40% degli endoparassiticidi [2].

Vista l'eterogeneità degli animali a cui sono rivolti i trattamenti antiparassitari, sono state sviluppate diverse forme farmaceutiche ad applicazione cutanea o somministrabili per via orale oppure per via iniettiva, progettate per adattarsi alle differenze anatomiche interspecifiche e per soddisfare al meglio le esigenze pratiche e le preferenze dei proprietari e degli allevatori degli animali. Ad esempio, per i polli è preferita la via orale perché consente di trattare un elevato numero di animali contemporaneamente, mentre per i bovini sono preferibili trattamenti somministrati per via cutanea o iniettiva, spesso a rilascio prolungato per ridurre la frequenza dei trattamenti. Per gli animali da compagnia, invece, sono preferite vie di somministrazione meno invasive ma che comunque favoriscano la compliance, come la via orale o topica.

Questi medicinali sono fondamentali per garantire il benessere e la salute degli animali, ma allo stesso tempo le quantità massive di cui si fanno uso sollevano preoccupazioni relative alla

sicurezza dell'uomo e dell'ambiente. Gestire questi aspetti è essenziali nel rispetto dell'approccio *One Health* che riconosce l'interconnessione esistente tra la salute umana, animale e ambientale. In quest'ottica quindi, l'impiego degli antiparassitari non può prescindere dalla considerazione dell'impatto che hanno sulla sicurezza alimentare umana, legate al rischio di persistenza di residui di farmaco nei tessuti animali edibili e su quella degli ecosistemi, derivante dall'esposizione dei comparti terrestri e acquatici a tali sostanze.

A fronte del ruolo epidemiologico degli ectoparassiti nel veicolare microorganismi patogeni ed endoparassiti di rilevanza zoonosica e delle consistenti dimensioni del mercato farmaceutico veterinario, questo lavoro di tesi si focalizzerà sui medicinali contro i parassiti esterni. Verranno analizzate le specie infestanti di interesse veterinario, le principali classi di principi attivi e le relative formulazioni farmaceutiche somministrabili per via cutanea, orale o iniettiva distinguendo i trattamenti rivolti agli animali destinati alla produzione di alimenti per l'uomo (DPA) da quelli per gli animali non destinati alla produzione di alimenti (NDPA). A seguire, si approfondiranno gli aspetti normativi riguardanti i residui di antiparassitari nelle carni, nelle uova e nel latte, i procedimenti per il calcolo dei limiti massimi consentiti per tali residui e del tempo di attesa. Infine, sempre in un'ottica legislativa, si descriveranno le modalità di valutazione del rischio ambientale e le misure messe in atto per mitigare l'eventuale rischio derivante dall'uso degli ectoparassiticidi negli animali DPA e NDPA.

Il Reg. (CE) n. 767/2009 riporta la definizione di animale DPA *“qualsivoglia animale nutrito, allevato o detenuto per la produzione di alimenti destinati al consumo umano, ivi inclusi animali che non sono destinati al consumo umano, ma appartengono alle specie che possono essere normalmente destinate al consumo umano nella Comunità”* e animale NDPA *“qualsivoglia animale nutrito, allevato o detenuto, ma non destinato al consumo umano, ad esempio animali da pelliccia, animali da compagnia e animali detenuti in laboratori, giardini zoologici o circhi”* [3].

Siccome gli animali che rientrano in queste definizioni sono moltissimi, in questo lavoro di tesi è stato scelto di includere negli “animali DPA” solo i mammiferi e i volatili che il Reg. (UE) n. 880/2017 definisce “specie maggiori”, cioè *“bovini, ovini da carne, suini e polli comprese le uova”*, escludendo perciò i salmonidi e l'acquacoltura [4], mentre il termine “animali NDPA” si riferisce solamente agli animali da compagnia più numerosi che, secondo le statistiche dell'industria europea degli alimenti per animali domestici, sono i cani e i gatti [5].

1. ECTOPARASSITI NEGLI ANIMALI DPA E NDPA

I principali ectoparassiti che infestano gli animali domestici e d'allevamento sono le pulci, i pidocchi flebotomi, le mosche, i tafani, le zanzare, le zecche e gli acari.

Le pulci sono piccoli insetti di colore scuro, lunghi al massimo 6 mm, sprovvisti di ali ma con forti zampe posteriori che permettono loro di saltare sull'ospite per cibarsi del suo sangue e riprodursi. Il ciclo vitale ha una durata variabile perché è fortemente influenzato dalla temperatura ambientale e dell'umidità; infatti, può concludersi in 3 settimane o richiedere fino a 6-12 mesi. In ambienti domestici riscaldati e durante i mesi caldi avviene senza interruzioni. Come mostrato in Figura 1, la femmina depone le uova sull'ospite, queste si disperdono nell'ambiente e in presenza di condizioni favorevoli, si schiudono, fuoriescono le larve che, nutrendosi di forfora e feci di pulci, mutano allo stadio di pupa e vengono avvolte da un bozzolo protettivo, di cui si liberano in seguito. Sebbene la trasmissione delle pulci possa avvenire direttamente, tra animali infestati e non quando vengono a contatto tra loro, è più probabile, in realtà, che avvenga per esposizione a un ambiente contaminato dalle uova.

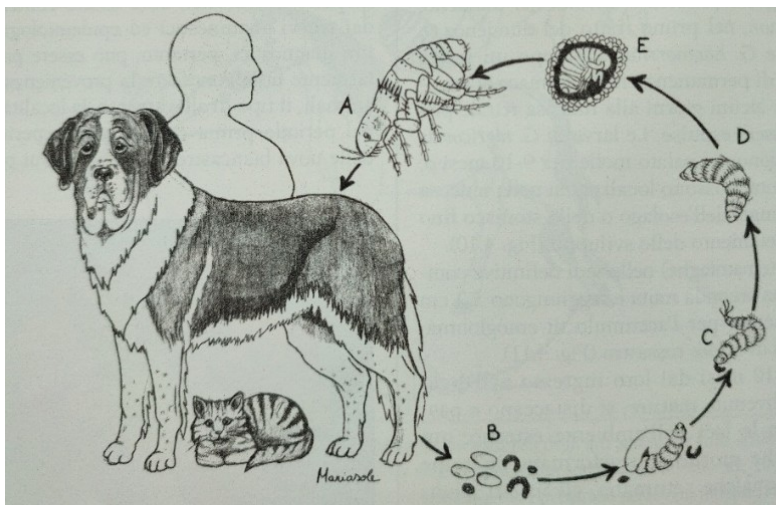


Figura 1: ciclo di sviluppo della pulce. Fase adulta (A), uova (B), larva vermiforme (C), mutazione della larva (D), pupa (E) [6]

Le pulci più facilmente riscontrabili sono *Ctenocephalides felis* (pulce del gatto), *Ctenocephalides canis* (pulce del cane) e *Ceratophyllus gallinae*, *Echidnophaga gallinacea* (pulce dei polli). Questi insetti infestano cani, gatti e avicoli ma non mostrano preferenze particolari in termini di ospiti: è comune, infatti, che la stessa specie di pulce invada animali diversi, domestici o selvatici, uomo compreso. I morsi delle pulci provocano prurito, infiammazione, alopecia e col tempo è probabile che si instauri allergia alla loro saliva; gravi

infestazioni causano anemia. Le pulci sono anche in grado di veicolare numerosi agenti patogeni come: *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi* e sono ospiti intermedi della tenia *Dipylidium caninum* [7].

I pidocchi sono insetti di piccole dimensioni e sprovvisti di ali. Il loro ciclo vitale si svolge interamente sull'ospite, mammifero o uccello, verso il quale hanno una elevata specificità. Sui loro peli o piume vengono attaccate le uova, dette lendini. La trasmissione avviene per contatto diretto tra animali o per condivisione di oggetti infestati. I pidocchi succhiatori sono ematofagi e parassitano cani (*Linognathus setosus*), bovini (*Haematopinus eurysternus*, *Linognathus vituli*), maiali (*Haematopinus suis*), pecore (*Linognathus ovillus*). I pidocchi masticatori si nutrono della pelle e del pelo di cani (*Trichodectes canis*), di gatti (*Felicola subrostratus*), di bovini (*Bovicola bovis*), di pecore (*Bovicola ovis*), e di piume di avicoli (*Menopon gallinae*, *Goniocotes gallinae*). In generale i pidocchi possono causare sugli animali escoriazioni, dermatiti, lesioni orticarioidi e necrotiche, col rischio di infezioni secondarie. Il pelo appare opaco e diradato, influenzando negativamente la qualità della pelle e del vello [7].

I flebotomi sono piccoli insetti di colore giallo chiaro, il corpo è esile e hanno una caratteristica peluria che ricopre il torace, l'addome e le ali. Le uova vengono deposte in luoghi umidi, caldi e bui ed è indispensabile la disponibilità di sostanza organica in decomposizione per il nutrimento delle larve. Superata la fase pupale, compaiono gli adulti che si nutrono di succhi vegetali zuccherini, ma le femmine sono anche ematofaghe, si cibano del sangue di molti mammiferi, di uccelli e dell'uomo. I flebotomi sono attivi solo dopo il tramonto durante i mesi estivi e si spostano compiendo brevi voli irregolari e silenziosi. Questi insetti possono essere portatori di protozoi del genere *Leishmania* che provocano la leishmaniosi nel cane, nel gatto e nell'uomo. Negli animali, che fungono da serbatoio, compaiono cachessia, alopecia, dermatite, malattie oculari, nefropatie ed epatopatie. [6, 7].

Le mosche sono dannose soprattutto per il bestiame, di seguito vengono riportate le specie più rilevanti. *Musca autumnalis*, comunemente detta mosca del viso, è un insetto lungo al massimo 10 mm, con torace e addome di colore grigio-nero o nero-giallo. Le femmine depongono le uova preferibilmente nello sterco bovino. In seguito, le larve mature si rifugiano nel terreno e si trasformano in pupe e infine in mosche adulte. Gli adulti si cibano di liquidi biologici rilasciati dagli animali, come muco, lacrime, saliva e sangue. Con l'arrivo dell'autunno, si riparano nelle case dove svernano fino alla primavera. La *Musca autumnalis* può provocare miasi, lesioni oculari per trasmissione del batterio *Moraxella bovis*, responsabile della

cheratocongiuntivite infettiva bovina e può veicolare nematodi, tra cui quelli del genere *Thelazia*, che parassitano gli occhi dei ruminanti e sono ospiti intermedi di *Parafilaria bovicola*.

La mosca *Haematobia irritans irritans*, chiamata comunemente mosca delle corna, è lunga circa 5 mm e ha una colorazione grigio-nera, è dotata di una proboscide pungente/succhiante. Le mosche adulte trascorrono quasi tutta la loro vita sull'ospite; infatti, le femmine lo abbandonano solo per la deposizione delle uova nelle feci fresche. In presenza di temperature e umidità favorevoli la loro maturazione è molto breve. Questi insetti sono ematofagi obbligati, per cui parassitano costantemente bovini, ma eventualmente anche pecore e cani. Nel bestiame causano stress e irrequietezza e possono trasmettere la filariosi cutanea bovina. La *Stomoxys calcitrans* cioè la mosca delle stalle, è un insetto lungo non più di 8 mm, di colore grigio-nero e provvista di apparato boccale pungente-succhiante. Lo sviluppo, dall'uovo alla fase adulta, richiede circa 20 giorni, la deposizione e la crescita delle larve avviene su residui vegetali in decomposizione e su feci animali. Le mosche adulte sono ematofaghe: pungono il bestiame, preferibilmente negli arti inferiori, e i cani sulle orecchie. Gli animali infestati da *Stomoxys calcitrans* diventano nervosi e lo stress va ad inficiare sul loro benessere e sulla resa produttiva. In aggiunta, la mosca delle stalle è in grado di trasmettere meccanicamente patogeni responsabili di diversi tipi di tripanosomiasi nei bovini, nelle pecore e nei cani. Queste mosche sono anche ospiti intermedi del nematode *Habronema*.

La *Musca domestica* cioè la mosca domestica, ha il torace scuro e striato, l'addome giallo e gli occhi rossastri. Per lo sviluppo delle larve è fondamentale la presenza di residui vegetali in decomposizione e feci fresche. Le mosche adulte entrano a contatto con numerosi batteri che possono potenzialmente essere trasmessi tramite le loro stesse feci, col rigurgito o meccanicamente. Partecipano alla diffusione della congiuntivite, mastite e, negli umani, di *Shigella*. Inoltre, possono essere loro stesse ospiti intermedi di elminti del genere *Habronema* e *Raillietina*.

Le larve di alcune mosche, come quelle dei generi *Hypoderma* e *Gasterophilus*, possono deporre le larve nei tessuti vivi o necrotici dei mammiferi e degli uccelli provocando una infestazione detta miasi. Nei casi più gravi, gli animali appaiono abbattuti, letargici e provano dolore e prurito nel sito colpito. Nelle pecore le larve vengono deposte nelle aree genitali e nelle cavità nasali e nei bovini nel sottocute. In questi sedi le larve attraversano tre stadi di maturazione, dopo i quali fuoriescono nell'ambiente esterno scavando gallerie nella pelle o

vengono espulse con le feci, si trasformano in pupe all'interno di un bozzolo protettivo e dopo alcuni mesi emergono gli adulti; uno schema del ciclo vitale è riportato in Figura 2.

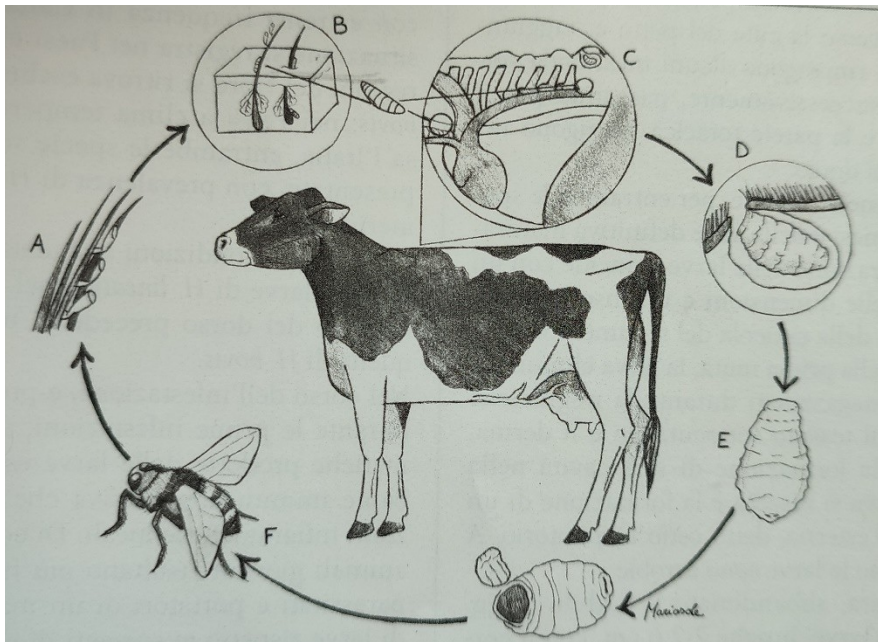


Figura 2: ciclo vitale di una femmina di *Hypoderma* spp. Deposizione delle uova sul pelo (A), penetrazione e migrazione della larva nella cute (B, C), formazione del nodulo nel tessuto sottocutaneo del dorso (D), impupamento al di fuori dell'animale (E), sfarfallamento dell'adulto (F) [6]

La miasi causa riduzione dell'appetito e del peso, con ripercussioni sullo stato di salute generale e sulla fertilità. Nei casi peggiori, l'instaurarsi di disidratazione, infezioni batteriche ed emorragie possono portare alla morte dell'animale [6, 7].

I tafani hanno un corpo robusto e glabro, possono raggiungere anche i 3 cm di lunghezza, gli occhi hanno una colorazione caratteristica. I generi di maggiore interesse veterinario sono *Tabanus* spp. e *Chrysops* spp. La crescita delle larve richiede la presenza di un elevato grado di umidità: il loro habitat ideale è lungo i corsi d'acqua, all'interno del limo o su terreni stagnanti. Lo sviluppo larvale è molto lento, può richiedere mesi o anni. Si cibano di substrati organici decomposti, altri artropodi o larve della loro stessa specie; solo la femmina adulta è ematofaga: si nutre del sangue di mammiferi di grossa taglia come il bestiame, ma anche di cani, di uccelli, di roditori e dell'uomo, causando grossi ponfi urticanti e dolorosi, da cui può fuoriuscire una modesta quantità di sangue. I tafani agiscono da vettori meccanici di molti agenti patogeni, cioè trasportano sul loro corpo, in modo passivo, i microrganismi, i quali non compiono nessuna fase del loro sviluppo biologico all'interno dell'insetto. Con queste modalità vengono trasmesse

patologie come la tripanosomiasi, l'antrace, l'anaplasmosi, la *Pasteurella tularensis* e la filariosi umana [7].

Le zanzare sono insetti di piccole dimensioni, lunghe circa 1 cm al massimo, con corpo e zampe esili. Vivono in zone paludose, presso pozzanghere o negli alberi cavi. Le larve impiegano fino a tre settimane per maturare, ma alcune specie possono anche svernare. Le zanzare adulte si nutrono di succhi vegetali e nettare, le femmine, in aggiunta, sono anche ematofaghe e sono attive durante la notte e al crepuscolo dei mesi estivi. L'ospite viene scelto in base a segnali visivi, olfattivi e dal calore corporeo emesso; di solito, preferiscono i mammiferi di grandi dimensioni. Le punture delle zanzare causano fastidio, prurito, gonfiore e arrossamento, ma in alcuni soggetti possono provocare reazioni di ipersensibilità e c'è la possibilità di sviluppare infezioni secondarie. Le zanzare di maggiore rilevanza in ambito medico e veterinario appartengono ai generi *Aedes*, *Anopheles* e *Culex*; tutti e tre possono veicolare, attraverso la puntura, nematodi del genere *Dirofilaria*, i quali svolgono parte del loro ciclo vitale all'interno dell'artropode. L'infestazione di questi nematodi negli ospiti finali prende il nome di filariosi. Nei cani, nei gatti e nell'uomo, il nematode *Dirofilaria repens* provoca la filariosi sottocutanea, nella quale le larve migrano nei tessuti connettivi sottocutanei dove maturano allo stadio adulto, con una lunghezza compresa tra i 5-17 cm. Resta per lo più asintomatica, occasionalmente si evidenziano noduli cutanei di piccole dimensioni, che contengono i nematodi, associati a prurito, papule e alopecia. La *Dirofilaria immitis* è responsabile della filariosi cardiopolmonare, le cui larve si localizzano nell'arteria polmonare, nei polmoni e nel cuore, provocando tosse, dispnea, insufficienza cardiaca congestizia e, se non trattata, morte. Nei bovini e nei cavalli, le filarie possono infestare il peritoneo, i tendini, i legamenti e il sottocute. Inoltre, queste zanzare possono agire da vettori per il virus dell'encefalite equina, per l'arbovirus e per il virus West Nile [6, 7].

Le zecche sono aracnidi ematofagi obbligati di vertebrati terrestri, la grandezza varia da pochi mm a 1 cm circa, il corpo è tondeggiante ed è un tutt'uno con la testa. Le famiglie principali sono due, *Ixodidae* e *Argasidae*. Le prime sono le zecche dure, caratterizzate dalla presenza di un rivestimento coriaceo sul dorso; effettuano pasti di sangue molto lunghi grazie al rostro permettono loro di restare adesi all'ospite anche per giorni. Questa famiglia comprende i generi: *Ixodes*, *Rhipicephalus*, *Hyalomma*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor*. La famiglia *Argasidae*, cioè le zecche molli, è priva dello scudo dorsale, l'alimentazione è breve ma più frequente. Tra queste si distinguono i generi *Argas* e *Ornithodoros* che parassitano gli uccelli. Le zecche, ad

eccezione di *Hyalomma spp.*, necessitano di tre ospiti differenti per effettuare il passaggio da uno stadio di sviluppo al successivo (larva, ninfa, adulto): alternano fasi più o meno lunghe in cui si alimentano su un animale e fasi in cui ritornano nell'ambiente per compiere la muta. La puntura avviene solitamente nelle aree più glabre e dove la cute è più sottile, come muso, orecchie, spazi interdigitali, regione ascellare. Le zecche non hanno una elevata specie-specificità: parassitano i cani, i gatti, gli animali selvatici, il bestiame, gli uccelli, i rettili e l'uomo. La presenza di questi aracnidi è influenzata da temperatura, umidità e disponibilità di ospiti: il picco di attività si registra in generale nelle stagioni più calde, con differenze tra le varie specie. Prediligono ambienti fitti di vegetazione erbacea o arbustiva su cui aspettano il passaggio del futuro ospite.

La puntura di zecca può causare agli animali infiammazione, reazioni di ipersensibilità e in caso di gravi infestazioni anche anemia e calo di produttività; trasmettono anche agenti infettivi come protozoi (*Theileria* e *Babesia*) batteri (*Anaplasma*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia spp.*, *Coxiella burnetii*, salmonelle, leptospire e brucelle) e virus come il virus dell'encefalite da zecca e il louping-ill virus [6, 7].

Gli acari sono piccoli aracnidi di dimensioni inferiori al mm, responsabili di diversi tipi di rogna negli animali a seconda della specie di acaro coinvolto. Gli acari del genere *Demodex* risiedono nei follicoli piliferi, nelle ghiandole sebacee e sudoripare e si cibano di secrezioni e cellule epidermiche. La trasmissione è diretta, spesso resta asintomatica, ma in caso di compromissione del sistema immunitario o per predisposizione di razza si sviluppa la rogna demodectica, localizzata o generalizzata. Colpisce mucche, pecore, maiali, cani e gatti che manifestano alopecia, desquamazione, pustole, la cute appare ispessita e maleodorante, possono svilupparsi infezioni batteriche secondarie. *Sarcoptes scabiei* provoca la rogna sarcoptica negli animali e la scabbia nell'uomo. Come mostrato in Figura 3, questi acari risiedono sulla superficie della cute, ma le femmine depongono le uova negli strati sottostanti che vengono raggiunti scavando gallerie nei tessuti; le larve a loro volta si fanno strada verso l'esterno per poter mutare nei follicoli piliferi. La rogna sarcoptica colpisce cani, bovini, pecore e maiali che mostrano forte prurito, alopecia, croste, eritemi papulosi, ipercheratosi, compromettendo il benessere e la produttività degli animali.

Il genere *Notoedres* ha un comportamento simile all'acaro descritto precedentemente, scava gallerie nello strato corneo dell'epidermide, ma le femmine restano raggruppate e la muta avviene all'interno di una sorta di nido. La rogna notoedrica affligge i gatti, ai quali porta

infiammazione, croste secche, ispessimenti cutanei e rugosità su orecchie e muso con possibilità di estendersi al resto del corpo. Gli acari del genere *Psoroptes* parassitano bovini e pecore, non scavano gallerie ma pungono la superficie della pelle provocando la fuoriuscita di siero del quale si nutrono e che in superficie forma croste. La rogna corioptica provocata dall'acaro *Chorioptes bovis*, si localizza nella parte inferiore degli arti posteriori, coda e perineo di bovini e ovini; è meno grave rispetto alle precedenti, spesso resta asintomatica. *Otodectes cynotis* parassita il canale uditivo esterno di cani e gatti, dove si forma un caratteristico cerume scuro; il fastidio derivato porta l'animale a scuotere spesso la testa col rischio di autotraumatismi. L'acaro più comune sulle galline è *Dermanyssus gallinae*, chiamato anche acaro rosso del pollame, è un ematofago notturno che provoca stress, anemia, prurito, tendenza al cannibalismo con ripercussioni sulla produzione di uova e sull'aumento di peso [6].

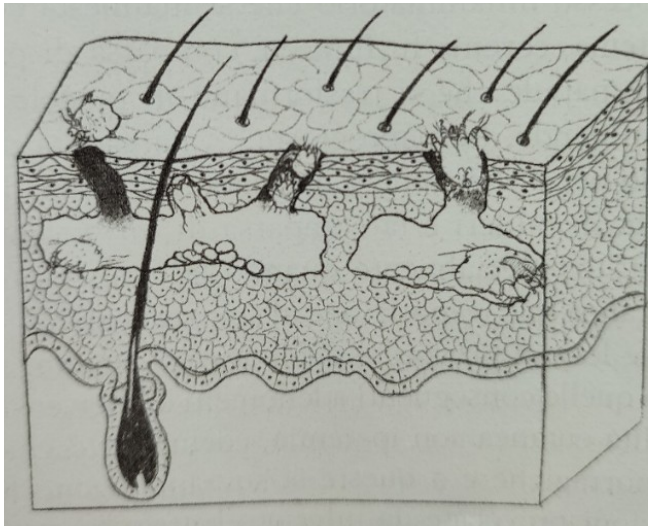


Figura 3: gallerie scavate da *Sarcoptes Scabiei* [6]

2. PRINCIPI ATTIVI

I principi attivi usati per il controllo degli ectoparassiti negli animali possono avere tre modalità d'azione, cioè agire sul sistema nervoso dell'insetto, inibirne la crescita e lo sviluppo o avere un effetto repellente. Il farmaco ideale dovrebbe avere una combinazione di questi effetti e in più dovrebbe agire selettivamente sul parassita senza causare effetti tossici all'animale ospite ed essere stabile e persistente abbastanza a lungo sulla pelle o nel sangue.

Di seguito vengono analizzate le classi dei piretroidi, degli organofosfati, dei carbammati, dei neonicotinoidi, dei fenilpirazoli, delle isoxazoline, dei lattoni macrociclici, dei regolatori di crescita e dei sinergizzanti.

I piretroidi sono molecole di sintesi che agiscono sul canale del sodio e sul canale del GABA, stimolando e poi deprimendo i neuroni, causando paralisi muscolare. Si dividono in cinque generazioni.

Nella prima generazione sono presenti gli esteri dell'acido crisantemico, la cui struttura è riportata in Figura 4, come la bioalletrina, che ha il problema di subire degradazione se esposta alla luce o all'aria, per cui è spesso usata solo negli shampoo contro zecche e pulci nei cani.

Nelle generazioni successive l'acido crisantemico è esterificato con l'alcol 3-fenossibenzilico e sono stati aggiunti sostituenti diclorovinilici o dibromovinilici.

La seconda generazione include fenotrina e tetrametrina, che sono più potenti rispetto ai precursori naturali ma sempre suscettibili alla degradazione. Il primo farmaco può essere presente negli spot-on o spray destinati ai cani, per i gatti, invece, risulta tossica e potenzialmente letale. La tetrametrina è somministrata tramite spray o nebulizzatori a cani e gatti.

Nella terza generazione si trova il piretroide più utilizzato in ambito veterinario, la permetrina, la cui struttura è riportata in Figura 5.

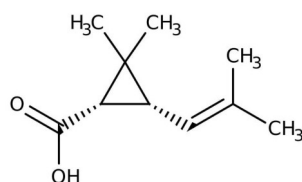


Figura 4: struttura chimica dell'acido crisantemico.

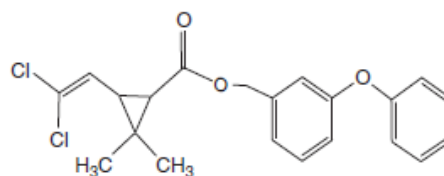


Figura 5: struttura chimica della permetrina [8]

La permetrina è più fotostabile e potente rispetto alle molecole delle classi precedenti e combina l'effetto acaricida con quello repellente, prevenendo così l'alimentazione del parassita e il

rischio di trasmissione di malattie. È somministrabile ai cani, sottoforma di spot-on, spray, shampoo o polveri, e agli animali DPA, inclusi gli avicoli, come polvere, pour-on, bagni per immersione o marche auricolari. Concentrazioni di permetrina superiori allo 0,5% non sono approvate sui gatti, perché causano convulsioni, vomito, anoressia, ipereccitabilità e morte.

Nella quarta generazione sono presenti i piretroidi aventi maggiore potenza e persistenza, come la cipermetrina, inclusa nelle formulazioni di marche auricolari per bovini per la protezione da mosche e tafani; la deltametrina, invece, è somministrata tramite collare antiparassitario ad azione insetticida, acaricida e repellente verso i flebotomi. Entrambi questi due piretroidi sono anche applicabili come polvere o spray agli avicoli. Un altro piretroide di quarta generazione che viene venduto in forma di collare, in combinazione con l'imidacloprid è la flumetrina.

Infine, l'unica rappresentante della quinta e ultima generazione è la beta-ciflutrina, disponibile come marche auricolari per controllare le infestazioni di mosche nei bovini [9, 10].

Le classi degli organofosfati inibiscono l'enzima acetilcolinesterasi in modo irreversibile causando la paralisi e la morte del parassita. Negli anni, molti organofosfati sono stati ritirati dal commercio a causa della tossicità acuta e cronica che provocano sugli animali a cui vengono applicati e sostituiti da sostanze più sicure ed efficaci immesse in commercio più recentemente, come le isoxazoline. Alcune razze bovine, alcuni cani da caccia, i gatti e gli animali giovani o fragili sono particolarmente sensibili a questi farmaci, il cui uso su di loro è quindi sconsigliato. Nonostante questo, alcuni principi attivi di questa classe vengono ancora somministrati per via topica, ad esempio il diazinone e il foxim, entrambi derivati dell'acido tiofosforico, nel primo è presente un anello pirimidinico, nel secondo un derivato ossimico a cui sono legati un benzene e un gruppo ciano. La struttura in comune al diazinone e al foxim è riportata in Figura 6.

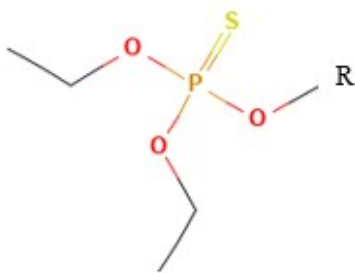


Figura 6: struttura chimica comune al diazinone e al foxim.

Il diazinone è contenuto in alcune marche auricolari usate nei bovini per respingere mosche, zecche e pidocchi o i collari per cani.

Il foxim si somministra in polvere o spray per via topica agli uccelli infestati da insetti e acari; il dichlorvos è stato il primo principio attivo ad essere incorporato nei collari antipulci per cani, ma attualmente non è più disponibile [9, 10].

I carbammati agiscono in modo simile agli organofosfati, con la differenza che l'inibizione dell'acetilcolinesterasi è reversibile spontaneamente e questo li rende più sicuri; la loro struttura generale è riportata in Figura 7. I carbammati più usati sono il propoxur e il carbaril; in entrambi il sostituito R1 è un idrogeno, mentre R2 è rispettivamente un derivato benzenico e un naftalene. Il propoxur e il carbaril sono usati negli spray, nelle polveri e nei collari per cani e gatti [8, 10].

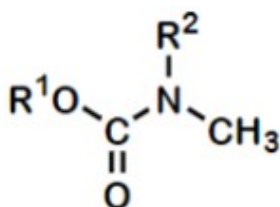


Figura 7: struttura chimica dei carbammati

Nella recente classe dei neonicotinoidi è presente l'imidacloprid, riportata in Figura 8, che agisce da inibitore competitivo dei recettori nicotinici dell'acetilcolina, bloccando la propagazione dell'impulso nervoso con conseguente morte dell'insetto. L'assenza di affinità per i recettori dei mammiferi lo rende sicuro. Non ha effetto repellente per le pulci, ma è un potente e rapido adulticida usato da solo o in associazione con altri principi attivi, sotto forma di collari o spot-on su cani e gatti. Agisce anche contro gli acari delle orecchie, tratta la rogna sarcoptica ed è usato per la prevenzione della Leishmaniosi grazie alla repellenza verso i flebotomi; l'attività contro le zecche è più scarsa. L'imidacloprid ha il vantaggio di essere resistente all'acqua.

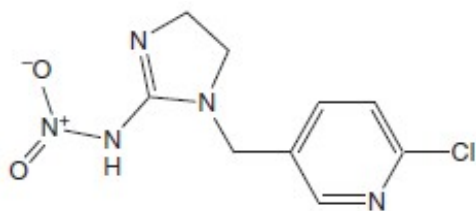


Figura 8: struttura chimica dell'imidacloprid [8]

Un altro neonicotinoide è il dinotefurano, che ha un potente effetto insetticida su tutti gli stadi di maturazione delle pulci ma di cui esistono solo due formulazioni spot-on, una in associazione al piripoxifene adatta all'uso su cani e gatti, l'altra che contiene anche permetrina è destinata solo ai cani [9].

Il fipronil è un ectoparassitico con struttura fenilpirazolica, mostrata in Figura 9, che blocca il passaggio degli ioni cloro attraverso i recettori GABAergici e glutammatergici degli insetti causandone la morte. Inizialmente era presente in commercio sottoforma di spray e spot-on, da applicare su cani e gatti, con effetto insetticida e acaricida contro zecche, pulci, pidocchi masticatori. Successivamente è stato associato ad altri principi attivi per ampliare lo spettro d'azione e avere una maggiore attività su tutti gli stadi di sviluppo dei parassiti. Ad esempio, l'aggiunta di regolatori di crescita ha consentito una rapida eliminazione delle pulci sugli animali e delle uova dall'ambiente. Paragonato, però, ai piretroidi ha un effetto repellente inferiore [9, 10].

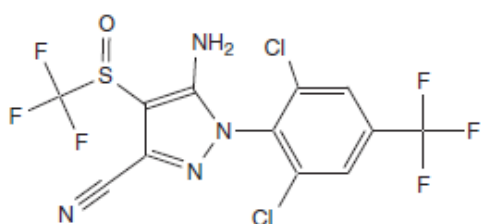


Figura 9: struttura chimica del fipronil [8]

La classe di più recente scoperta è quella delle isoxazoline che include quattro molecole: afoxolaner, fluralaner, lotilaner e sarolaner, la cui struttura è riportata in Figura 10.

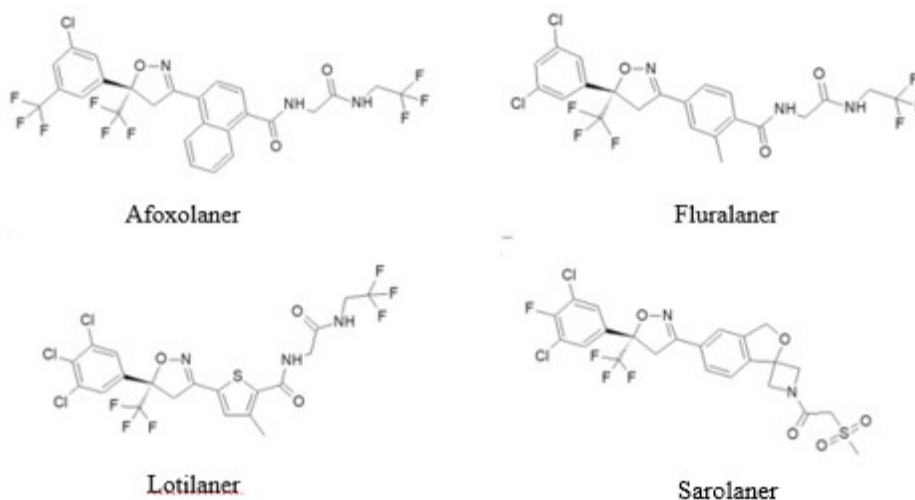


Figura 10: strutture chimiche di afoxolaner, fluralaner, lotilaner e sarolaner [11]

Dato che hanno tutte un centro chirale, alcuni medicinali sono venduti sotto forma di racemo, mentre altri contengono solo l'enantiomero S che è l'eutomero.

Condividono tutte lo stesso meccanismo d'azione che consiste nel bloccare il passaggio del cloro attraverso i recettori del GABA e, in misura minore, del glutammato, provocando la paralisi e la morte dell'ectoparassita. Questi composti sono una valida e sicura alternativa in caso in cui si instauri resistenza al fipronil, dato che, sebbene il meccanismo d'azione sia lo stesso, il sito di legame è differente. Questi farmaci hanno un effetto acaricida e insetticida sistemico che non viene influenzato negativamente dall'esposizione a fattori ambientali, come il sole, i bagni o la pioggia, come invece accade per gli antiparassitari di altre classi che, non venendo assorbiti a livello sistemico, rimangono sulla cute. Le isoxazoline si differenziano per lo spettro di attività, infatti ognuna è attiva verso specie di parassiti differenti, e per i parametri farmacocinetici.

L'afoxolaner è somministrato con cadenza mensile ai cani sottoforma di compressa masticabile appetibile per le infestazioni da pulci, zecche e acari che provocano la rogna demodectica.

L'esafoxolaner, l'enantiomero purificato dell'afoxolaner, è venduto come spot-on per i gatti.

Il fluralaner è disponibile in forma di soluzione iniettabile sottocutanea, di compresse orali e di spot-on per i cani e per i gatti, mentre nelle pecore e nel pollame è somministrato per via orale nell'acqua da bere e tramite pour-on nei bovini. Ha una elevata efficacia contro pulci, zecche e acari che provocano la rogna demodectica, sarcoptica e otodectica nel cane e nel gatto; nelle galline ovaiole è usato con successo per l'acaro rosso *D. gallinae*. Il fluralaner ha una biodisponibilità piuttosto bassa in seguito a somministrazione orale, ma aumenta notevolmente se assunto insieme al cibo, che essendo ricco di grassi e proteine facilita la solubilità e l'assorbimento del principio attivo lipofilo. Nel pollame, invece, non si osservano differenze significative; questo probabilmente è dovuto alle differenze nella composizione della dieta dei polli e dei cani.

Il lotilaner è somministrato per via orale, insieme al cibo, come compressa a cani e gatti infestati da pulci, zecche e per la terapia della rogna demodectica nel cane.

Il sarolaner è venduto come spot-on per gatti e compresse per cani per proteggerli da pulci, zecche e acari responsabili della rogna sarcoptica, demodectica e otodectica [11].

Una delle classi più importanti nel trattamento delle malattie parassitarie è quella dei lattoni macrocicli, che comprendono la famiglia delle avermectine con ivermectina, doramectina, eprinomectina e selamectina, e la famiglia delle milbemicine come moxidectina e milbemicina

ossima. Sono tutti macrolidi prodotti da streptomiceti, ma le milbemicine si differenziano strutturalmente per la mancanza del disaccaride in C13; la struttura generale delle avermectine è riportata in Figura 11.

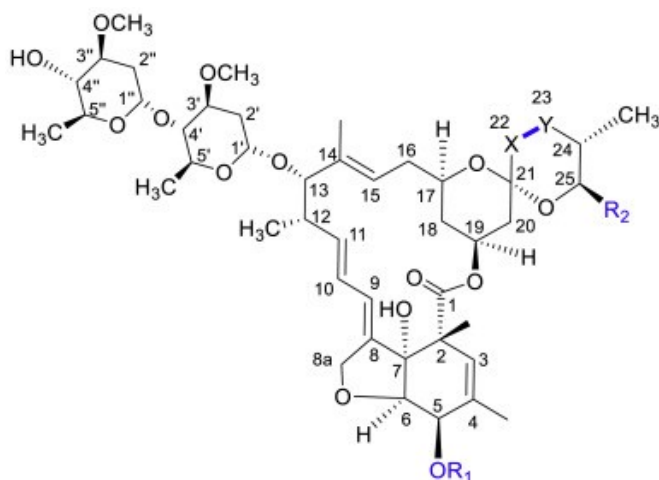


Figura 11: struttura chimica delle avermectine [8]

La loro particolarità è di avere un effetto endectocida, cioè sono efficaci sia come ectoparassitici che come endoparassitici contro gli elminti; quest'ultima attività non verrà però approfondita. Queste molecole si legano ai recettori del glutammato aumentando l'afflusso di cloro che causa iperpolarizzazione dei neuroni e conseguente paralisi e morte dell'insetto. Sono farmaci attivi a basse dosi e molto sicuri, ad eccezione che per i cani portatori della mutazione MDR1, responsabile dell'alterata funzione d'efflusso della glicoproteina P a livello della barriera ematoencefalica. Le razze di cani portatrici del gene mutato, come alcuni cani da pastore, levrieri, Whippet, Border Collie e Bearded Collie, sono particolarmente sensibili ad alcuni lattoni macrociclici, che provocano loro neurotossicità con atassia, paresi, scialorrea, midriasi, eccitabilità e coma, se sono somministrate a dosi superiori a quella approvata, pari a 6 mcg/kg. Questi farmaci hanno un'azione sistemica e sono somministrati per via orale, transdermica e iniettiva sottocutanea agli animali DPA.

L'ivermectina è somministrata sottoforma di formulazioni iniettabili, orali e di pour-on al bestiame per il controllo dei pidocchi succhiatori, degli acari, delle mosche e delle zecche. L'epinomectina e la doramectina sono contenute in pour-on e formulazioni iniettabili contro pidocchi, mosche e acari usate nei bovini, nei suini e negli ovini.

La moxidectina è somministrata come pour-on alle pecore e ai bovini e come soluzione orale solo alle pecore, per trattare le infestazioni da larve di mosca, acari e pidocchi succhiatori.

Per quanto riguarda gli animali NDPA, la doramectina è somministrata per via iniettabile in cani e gatti per il trattamento della rogna demodectica, ma visto il rischio di gravi effetti collaterali, sono preferibili le isoxazoline.

In passato, l'ivermectina è stata utilizzata per via orale e sottocutanea per la terapia della rogna demodectica e sarcoptica nei cani, ma visto il rischio di tossicità e l'avvento delle isoxazoline, il suo utilizzo a questi scopi non è più consigliato. Nei gatti, l'ivermectina è inclusa nella formulazione di una sospensione auricolare per il trattamento della rogna otodectica.

La milbemicina ossima è usata off-label nei cani per curare la rogna demodectica resistente ad altre terapie e nei gatti come soluzione otologica in caso di rogna otodectica.

La selamectina è somministrata in spot-on a cani e gatti per il controllo delle pulci, degli acari dell'orecchio e dei pidocchi; solo nel cane è usata per la rogna sarcoptica [9, 12].

Un'altra categoria di principi attivi spesso inclusi nelle formulazioni sono i regolatori di crescita, che agiscono sulle forme non ancora adulte degli insetti bloccandone il ciclo vitale. I più comuni sono l'(S)-metoprene e il piriproxifene che, mimando l'ormone giovanile prodotto fisiologicamente dagli insetti, mantengono questi ultimi in uno stadio di sviluppo immaturo causandone la morte. Si somministrano da soli, ma più spesso associati ad altri principi attivi adulticidi, per ampliare lo spettro d'attività. Sono i prodotti più sicuri ed efficaci, non causano effetti collaterali all'animale a cui vengono applicati. Sono attivi contro uova e larve di pulci e tafani, respingono zecche, pidocchi e mosche. Si somministrano attraverso collari, spot-on, spray, shampoo.

Infine, ci sono i sinergizzanti che agiscono inibendo gli enzimi posseduti dagli insetti e usati per degradare l'insetticida, aumentando così gli effetti di quest'ultimo. Il principale è il piperonil butossido contenuto in spot-on, shampoo, spray e polveri per i cani, i gatti e i bovini [9].

La disponibilità dei medicinali antiparassitari è soggetta a variazioni geografiche; di conseguenza, la reperibilità dei principi attivi e delle forme farmaceutiche descritte può variare da uno Stato all'altro. Nelle Tabelle 1 e 2 sono riportati i medicinali commercializzati in Europa, rispettivamente per gli animali DPA e NDPA [13].

FARMACO	FORMULAZIONE	ANIMALI DPA
<i>PIRETROIDI</i>		
Permetrina	Marche auricolari	Bovini
Cipermetrina	Marche auricolari	Bovini
	Soluzioni per immersione, pour-on	Bovini, pecore
Deltametrina	Pour-on, soluzione cutanea	Bovini, pecore
Flumetrina	Pour-on	Bovini, pecore
<i>ORGANOFOSFATI</i>		
Phoxim	Soluzione per irrorazione	Bovini, pecore, maiali
	Soluzione per immersione	Pecore
	Pour-on	Maiali
	Spray	Polli
<i>ISOXAZOLINE</i>		
Fluralaner	Soluzione in acqua di abbeveraggio	Polli
<i>LATTONI MACROCICLICI</i>		
Ivermectina	Soluzione orale	Pecore
	Pour-on	Bovini
	Premiscela orale	Maiali
	Iniezione SC	Bovini, pecore, maiali
Doramectina	Iniezione IM	Pecore, maiali
	Iniezione SC, Pour-on	Bovini
Eprinomectina	Pour-on	Bovini, pecore
	Iniezione SC	Bovini, pecore
	Soluzione orale	Pecore
	Iniezione SC	Bovini, pecore
	Pour-on	Bovini

Tabella 1: formulazioni di medicinali ectoparassitici per animali DPA vendute in Europa [13]

FARMACO	FORMULAZIONE	ANIMALI NDPA
PIRETROIDI		
Bioalletrina	Shampoo, spray	Cani
	Polvere	Gatti
Fenotrina	Shampoo, spray	Cani, gatti
Tetrametrina	Spray, soluzione cutanea, polvere, shampoo	Cani, gatti
Permetrina	Shampoo, spray	Cani, gatti
	Spot-on	Cane
Deltametrina	Collare	Cani
Flumetrina	Collare	Cani, gatti
ORGANOFOSFATI		
Diazinone	Collare	Cani, gatti
Phoxim	Soluzione cutanea	Cani
CARBAMMATI		
Propoxur	Collare	Cani, gatti
	Shampoo	Cani
Carbaril	Spray	Cani
	Polvere	Cani, gatti
NEONICOTINOIDI		
Imidacloprid	Collare, spot-on	Cani, gatti
Dinotefurano	Spot-on	Cani, gatti
FENILPIRAZOLI		
Fipronil	Spot-on, spray, polvere	Cani, gatti
ISOXAZOLINE		
Afoxolaner	Compresse masticabili appetibili	Cani
Esafoxolaner	Spot-on	Gatti
Fluralaner	Iniezione SC, spot-on, Compresa masticabile appetibile	Cani
	Spot-on	Gatti
Lotilaner	Compresse masticabili appetibili	Cani, gatti
Sarolaner	Spot-on	Gatti
	Compresa masticabile appetibile	Cani
LATTONI MACROCICLICI		
Ivermectina	Sospensione auricolare	Gatti
Selamectina	Spot-on	Cani, gatti

Tabella 2: formulazioni di medicinali ectoparassitici per animali NDPA vendute in Europa [13]

3. FORMULAZIONI PER IL TRATTAMENTO DEGLI ECTOPARASSITI

La prevenzione e il trattamento degli ectoparassiti negli animali avvengono tramite la somministrazione di ectoparassitici ed endectocidi per via topica/transdermica, per via orale o per via iniettiva. Di seguito verranno analizzate le vie di somministrazione e le formulazioni adoperate negli animali DPA e NDPA.

3.1 FORMULAZIONI PER ANIMALI DPA

3.1.1 Preparazioni per applicazione cutanea

La scelta e l'efficacia dei trattamenti ectoparassitici per applicazione cutanea non dipendono soltanto dalle caratteristiche chimico-fisiche del principio attivo e dalla formulazione ma sono influenzate anche dalle differenze anatomiche della cute degli animali.

La porzione più superficiale della pelle è rappresentata dall'epidermide, costituita da cellule epiteliali disposte su più strati. Lo strato esterno più esterno è costituito dai corneociti, cellule morte circondate da una matrice lipidica che rappresentano il principale ostacolo all'assorbimento dei farmaci [8].

Lo strato sottostante è il derma, formato da tessuto connettivo e nel quale sono ospitate le arterie muscolocutanee che irrorano i muscoli sottostanti e la pelle, e le arterie cutanee dirette, disposte parallelamente alla superficie cutanea [8].

Una delle differenze più evidenti tra la cute umana e quella degli altri mammiferi è la presenza di peli, i peli di rivestimento e i peli lanosi. I peli di rivestimento, detti anche "peli della giarra", sono i principali costituenti del mantello animale; i peli lanosi, invece, sono più sottili, ondulati e corti, e sono presenti in maggiore quantità durante la stagione invernale. Negli uccelli il corrispettivo dei peli sono piume e penne. I peli e le piume originano dai follicoli piliferi, cioè invaginazioni dell'epidermide nel derma [14, 15].

I follicoli piliferi sono associati ad altri due annessi cutanei: le ghiandole sebacee e le ghiandole sudoripare. Le prime sono ghiandole olocrine che rilasciano il sebo nel canale pilifero e sono più sviluppate in corrispondenza dei peli più sottili. Le ghiandole sudoripare possono essere apocrine e merocrine. Le apocrine sono distribuite su tutta la superficie corporea dotata di peli, infatti, sfruttano anch'esse il canale del pelo per liberare una secrezione abbastanza viscosa, leggermente alcalina e dall'odore caratteristico. Le merocrine o eccrine si trovano generalmente

nelle aree di pelle in cui c'è assenza di peli; infatti, rilasciano quello che è il sudore vero e proprio attraverso il poro sudorifero [14, 15].

L'ultimo strato della pelle è il sottocute o ipoderma, formata dai lipociti. Il sottocute è praticamente assente nelle zone del corpo sottoposte a frequente movimento ed è importante per l'isolamento termico e le riserve energetiche [14, 15].

In Figura 12 è riportata la struttura generale della pelle dei mammiferi.

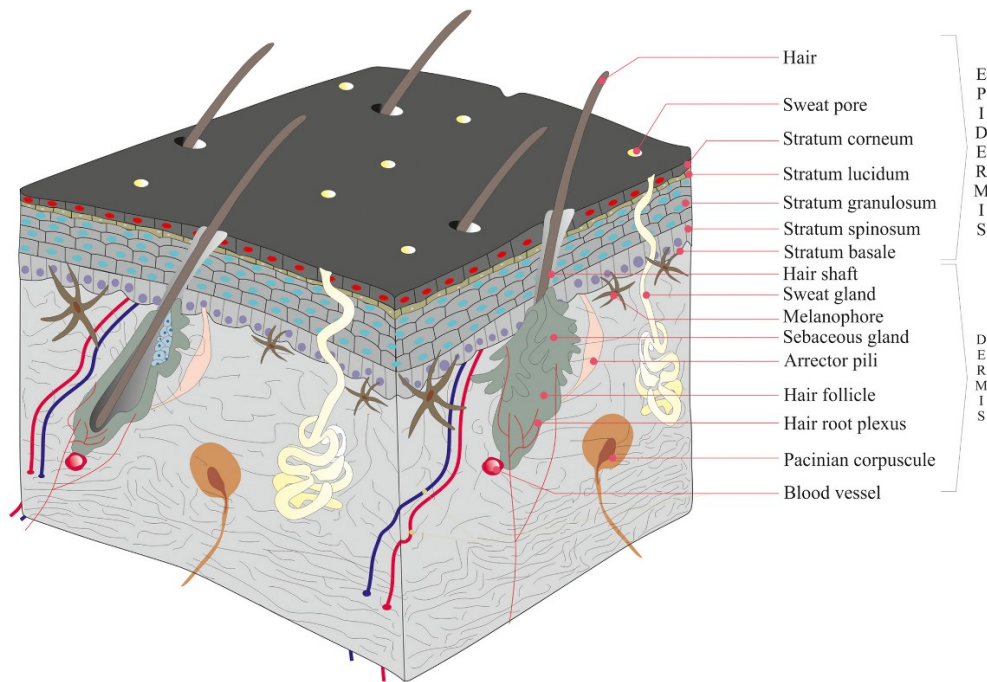


Figura 12: struttura della pelle di mammifero [16]

Nel bovino lo spessore della pelle nelle diverse regioni corporee cambia a seconda della razza. Nelle aree in cui il mantello è più rado, l'epidermide è più spessa. La maggior parte delle ghiandole sudoripare sono apocrine, mentre quelle eccrine sono limitate ai garretti, alle regioni digitali e a ridosso degli orifizi. Attorno al perineo, alle labbra, alle narici, alle corna e alla base della coda ci sono le ghiandole sebacee. I peli della giarra sono gli unici costituenti del mantello e spesso ogni follicolo ospita più peli [14].

Nella pecora l'epidermide è più spessa nelle regioni corporee non coperte dalla lana. Le ghiandole sudoripare e sebacee sono diffuse in tutto il corpo e sono particolarmente sviluppate in corrispondenza di tre cavità posizionati vicino all'angolo mediale dell'occhio, nello spazio interdigitale e nell'inguine; il secreto prodotto in queste zone è molto grasso e denso. Nelle pecore destinate alla produzione di lana, come quelle di razza Merinos, il vello è

costituito interamente da peli della lana. In altre razze, il vello è composto anche da peli di giarra, rigidi e spessi [14].

Nel maiale lo spessore della pelle dipende dalla razza, dal sesso e dall'età, ad esempio, nei verri, cioè i maschi non castrati, è più spessa rispetto alle femmine; in generale è piuttosto sottile, tranne che sul grugno. Il sottocute nel maiale forma il cosiddetto lardo; questo raggiunge diversi centimetri di spessore e fornisce isolamento termico. Tutto il corpo è provvisto di ghiandole sudoripare apocrine, mentre quelle merocrine sono concentrate sui tratti distali delle zampe e rilasciano secrezioni dense. Quelle sebacee, invece, sono molto poco sviluppate e diffuse. I peli, detti setole, sono radi, di lunghezza e spessore maggiori sul dorso [14].

La pelle degli uccelli è più sottile di quella dei mammiferi. Come si può osservare in Figura 13 l'epidermide è composta solo da due strati, mentre il derma è più sviluppato. Il piumaggio, costituito da penne e piume, assicura protezione ed è importante per la termoregolazione, l'impermeabilizzazione e la sensibilità tattile. I polli sono sprovvisti di ghiandole sudoripare e le uniche sebacee sono nel meato acustico esterno, nella cloaca, ma soprattutto, sopra la coda, dove è presente la ghiandola dell'uropigio. Questa ghiandola produce un sebo che viene spalmato sul piumaggio tramite il becco, fornendo impermeabilità [16]

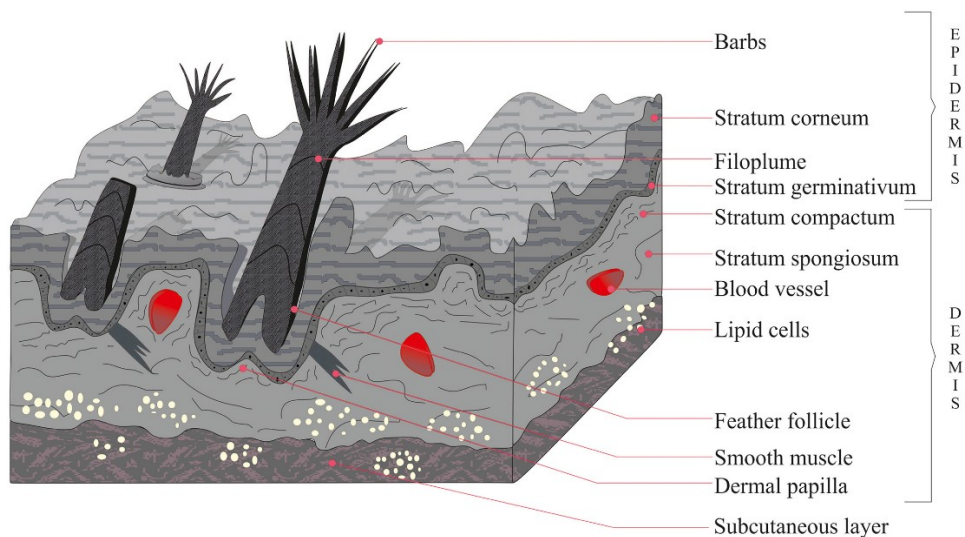


Figura 13: struttura della pelle degli uccelli [16]

Gli antiparassitari per applicazione cutanea possono svolgere un effetto topico o sistemico. L'effetto locale è dato dall'accumulo del farmaco nelle ghiandole sebacee e nei follicoli piliferi, da cui viene rilasciato gradualmente distribuendosi sullo strato corneo e sul pelo. Al contrario, le preparazioni contenenti lattoni macrociclici, ad azione endectocida, hanno un effetto

sistemico garantito dall'assorbimento percutaneo che consiste nella diffusione della sostanza attraverso la cute fino a raggiungere la circolazione sistemica.

Nell'assorbimento percutaneo le sostanze raggiungono la circolazione sanguigna in tre modi: attraversando i corneociti, passando attorno alle cellule o sfruttando i follicoli piliferi e i dotti ghiandolari. Questo processo è influenzato da diversi fattori come le caratteristiche della formulazione, le interazioni instaurate col veicolo, il coefficiente di ripartizione, l'apporto ematico della pelle regolato a sua volta anche dalla temperatura esterna e lo stato di idratazione. Anche l'anatomia della pelle e le relative differenze interspecifiche sono implicate nell'assorbimento; infatti, nei maiali, che hanno molti meno follicoli piliferi e ghiandole sebacee rispetto agli altri animali presi in considerazione e hanno uno spessore cutaneo maggiore, l'assorbimento transdermico è inferiore e più lento. Il sebo prodotto in abbondanza dai bovini e soprattutto degli ovini, può agire da emulsionante e diluente facilitando la distribuzione e l'assorbimento delle sostanze applicate sulla cute. La produzione di secrezioni sebacee e la qualità delle stesse risente, però, dei livelli ormonali e dei cambiamenti stagionali [8].

Gli antiparassitari per applicazione cutanea negli animali d'allevamento sono sottoforma di polveri, preparazioni liquide e marche auricolari.

Le polveri possono essere somministrate ai bovini attraverso le cosiddette *dust bag* costituite da un sacchetto di materiale poroso contenente l'ectoparassitocida, il quale è inserito in una sorta di borsa di materiale idrorepellente e aperto all'estremità inferiore, consentendo la fuoriuscita della polvere. La *dust bag* viene generalmente appesa in luoghi di transito per gli animali così che siano costretti a sfregare contro il fondo della borsa e la polvere si depositi sul mantello [17].

Le formulazioni liquide possono essere applicate per immersione o tramite spray. Il metodo a immersione può essere usato per bovini, ma soprattutto per gli ovini. Si utilizzano formulazioni liquide come emulsioni e sospensioni concentrate o soluzione acquose da diluire in acqua, all'interno di vasche di dimensioni tali da consentire l'immersione completa di più animali contemporaneamente senza che il liquido trabocchi. Durante il trattamento, il farmaco viene trattenuto meccanicamente dal vello della pecora e assorbito e distribuito nella lana e nel sebo. A mano a mano che gli ovini si immergono, il contenuto della vasca cala, per cui è importante che periodicamente vengano aggiunti sia l'acqua che la preparazione concentrata di

antiparassitario, in modo che ogni animale riceva una concentrazione di farmaco efficace. Questa tipologia di trattamento è meno usata rispetto al passato perché è onerosa, richiede molta manodopera, un elevato consumo di acqua con un importante rischio di inquinamento ambientale [18].

Un ulteriore metodo di applicazione delle formulazioni liquide è tramite spruzzatura, ma, in base al numero di animali da trattare e alla gestione degli stessi, le attrezzature usate per applicare l'antiparassitario possono essere diverse come irroratrici manuali, a zaino o motorizzate. Souza et al. hanno condotto uno studio in cui hanno valutato come la pressione, la dimensione delle gocce e il modello di irrorazione (getto a cono pieno o a ventaglio) influenzano l'efficacia di un trattamento acaricida sulle vacche da latte infestate da zecche del genere *Rhipicephalus*. Vista l'inesistenza di ugelli creati appositamente per applicazione veterinaria, è stato usato un irroratore a motore con ugelli usati in campo agricolo. Sono stati condotti tre esperimenti, in ognuno dei quali due gruppi di animali hanno ricevuto il trattamento modificando una o due delle tre variabili considerate. Si è osservato che l'efficacia maggiore si è ottenuta con pressioni di erogazione maggiori, pari a 6,9 bar, in accordo con un altro studio che confrontava l'utilizzo di un irroratore a motore con uno a zaino manuale [19]. La dimensione ideale delle gocce è media-grande, in questo modo hanno maggiori velocità e impatto sul mantello dell'animale e penetrano meglio nel pelo. Infine, il getto di irrorazione più efficiente è risultato essere quello a cono pieno, che ha permesso di raggiungere anche le pieghe corporee meno accessibili riducendo la dispersione dell'acaricida nell'ambiente [19].

Uno studio analogo si è analizzato come la differenza di pressione di lavoro dell'irroratrice influisce sull'efficacia e sulla deposizione sul manto bovino di un medicinale antiparassitario contenente fention, cipermetrina e clorpirifos sottoforma di emulsione da diluire in acqua. Lo studio è stato eseguito su 30 bovini da latte divisi in 3 gruppi, di cui 2 hanno ricevuto l'antiparassitario mentre il terzo ha funto da controllo. Grazie a un'irroratrice a motore provvista di manometro, è stato applicato il medicinale a due diverse pressioni, pari a 50 psi (3,4 bar) al gruppo 1 e 300 psi (20,7 bar) al gruppo 2, il gruppo 3 non è stato trattato. Le pressioni di lavoro sono state scelte per rispecchiare quelle delle irroratrici comunemente usate negli allevamenti. Per determinare l'efficacia del trattamento, sono state contate le zecche presenti sugli animali come riportato in Tabella 3. Per confrontare la deposizione di antiparassitario, è stato raccolto un totale di 1 g di pelo da ciascun animale, a 6 ore post trattamento e quotidianamente nei 3 giorni successivi. La massima efficacia si osserva al giorno 21 [20].

Giorno post trattamento	N° medio di zecche Gruppo 1 (P=3,4 bar)	N° medio di zecche Gruppo 2 (P=20,7 bar)	N° medio di zecche Gruppo 3 (controllo)
0	66,44	65,06	64,81
3	27,94	20,25	70,56
21	0,75	1,31	56,56
35	5,63	6,88	33,19

Tabella 3: variazione del numero medio di zecche rilevate sui bovini in base alla pressione di erogazione usata per somministrare la preparazione liquida di ectoparassitocida [20]

Questo studio mostra che la differenza di pressione con cui è stato erogato l'acaricida non ha influenzato significativamente il numero di zecche presenti sui bovini.

La distribuzione dei principi attivi nelle regioni corporee alle diverse pressioni di applicazione si può osservare nella Figura 14.

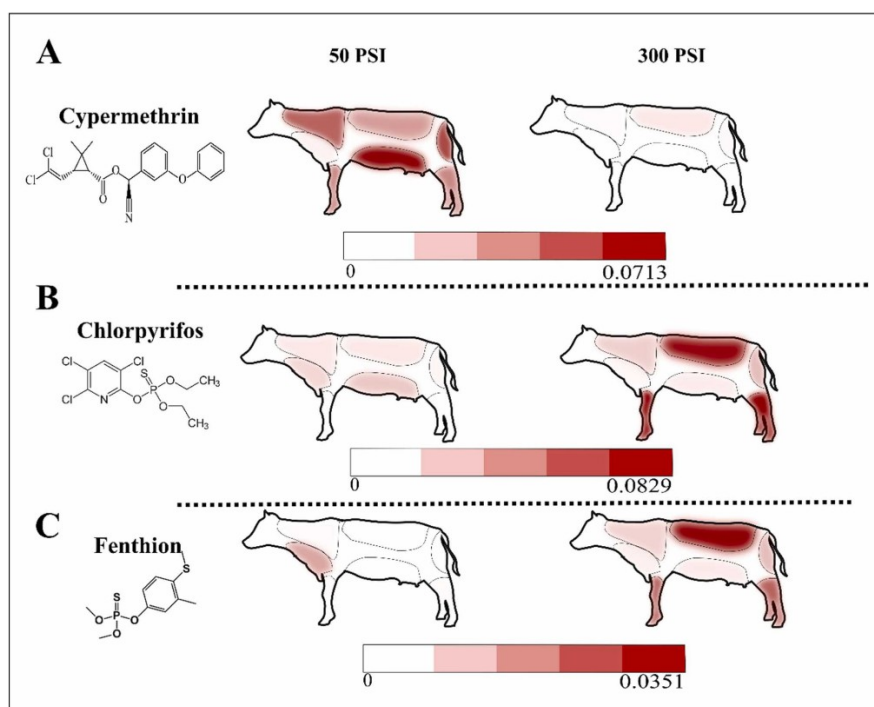


Figura 14: concentrazione media di ogni principio attivo in diverse regioni corporee dei bovini sottoposti al trattamento acaricida [20]

La differenza di concentrazione dei principi attivi sul pelo dell'animale può essere spiegata dalle loro caratteristiche chimico-fisiche degli stessi, infatti, la moderata idrofilia degli organofosfati, associata alla deposizione delle gocce sulla superficie del mantello, a causa della bassa pressione di applicazione, fa sì che i due principi attivi siano più esposti alla luce del sole con la possibilità di essere degradati. Quindi quando si aumenta la pressione di applicazione, fenthion e clorpirifos penetrano più in profondità, dove restano protetti dalla fotossidazione. Al contrario, per la cipermetrina l'aumento di pressione ne riduce la deposizione sul pelo perché

essendo altamente lipofila, la riduzione delle dimensioni delle gocce può essere responsabile della separazione del principio attivo dalla fase acquosa compromettendo l'omogeneità della formulazione e potenzialmente anche la capacità di adesione al mantello dell'animale. In aggiunta, anche le cariche elettrostatiche del pelo e dei farmaci ionizzati possono contribuire alla distribuzione dei medicinali. Infine, il fatto che alcune zone corporee siano rimaste meno protette dall'acaricida può essere dovuto all'attrito con le superfici, alla toelettatura o alla densità del pelo [20].

I pour-on sono soluzioni oleose o emulsioni applicate sulla cute lungo la colonna vertebrale dell'animale. La formulazione include cosolventi come glicole propilenico, etanolo, glicerina, glicole polietilenico e dimetilacetamide, e tensioattivi come i Tween[®] 20, Tween[®] 80 e lecitina. Le formulazioni che contengono principi attivi ad attività repellente o ectoparassitocida sono destinate a restare sulla superficie cutanea e l'assorbimento sistemico è scarso o nullo. Il prodotto, infatti, deve avere il giusto grado di lipofilia per diffondersi sullo strato corneo e nel follicolo pilifero grazie al sebo, col quale ha elevata affinità; questo permette anche un effetto più duraturo. Partecipano alla distribuzione della sostanza anche lo sfregamento dell'animale e la toelettatura. I pour-on che contengono principi attivi della classe dei lattoni macrociclici, ad azione endectocida, vedono l'aggiunta di *penetration enhancer*, come il 2-pirrolidone, dimetilformammide, decilmetil sulfossido, il glicole propilenico, alcoli, esteri e il dimetilsulfossido (DMSO), che facilitano la permeazione consentendo l'assorbimento sistemico. Il più usato è il DMSO, la sua azione si manifesta quando la sua concentrazione è pari al 50-60%, ma se supera il 70% potrebbe dare irritazioni cutanee. Non è chiaro il suo esatto meccanismo d'azione, ma pare che interagisca con i lipidi dello strato corneo alterandone temporaneamente la struttura, favorendo così l'assorbimento percutaneo [8, 17, 21].

L'applicazione topica tramite pour-on degli ectoparassitocidi risulta particolarmente efficace per trattare le infestazioni da pidocchi masticatori nei bovini. Dato che i pidocchi masticatori si nutrono dei detriti cutanei e non di sangue, si è osservato che la somministrazione di ivermectina per via topica espone questi parassiti a concentrazioni più elevate rispetto a quelle derivanti da iniezioni sottocutanee dello stesso farmaco. Infatti, grazie al pour-on il pidocchio muore sia perché entra a contatto fisicamente con l'antiparassitario sia perché lo ingerisce; al contrario per i pidocchi succhiatori risulta più efficace la somministrazione sottocutanea di ivermectina [12].

Le formulazioni pour-on di lattoni macrociclici sono usate anche per il trattamento degli ectoparassiti nelle pecore. Nelle pecore è stata somministrata con successo eprinomectina pour-on, due volte a distanza di 14 giorni, contro gli acari *Sarcoptes scabiei*. L'applicazione doppia del farmaco è necessaria perché nelle pecore, rispetto ai bovini, si riscontrano valori plasmatici inferiori con una singola dose, perché il vello e la struttura della pelle rallentano l'assorbimento. [22]

Il controllo dei parassiti esterni può avvenire anche tramite l'uso di dispositivi indossabili, come le marche auricolari. Si tratta di targhette di polivinilcloruro impregnate di farmaco, che vengono applicate a entrambe le orecchie degli animali da allevamento. Il farmaco viene rilasciato dal dispositivo e si distribuisce sul pelo e nel sebo della cute auricolare; in seguito, grazie allo scuotimento delle orecchie, allo sfregamento del capo e alle interazioni tra un'animale e l'altro, si diffonde anche in altre regioni corporee. Le marche auricolari contenenti permetrina hanno mostrato efficacia nel ridurre il numero di mosche delle corna, mosche del viso e mosche delle stalle dai bovini, mentre nelle pecore, le marche auricolari a base di cipermetrina hanno avuto effetto contro i pidocchi e alcune specie di zanzare. Possono contenere una quantità limitata di farmaco perché è importante che il loro peso massimo sia inferiore ai 17 g, per evitare lesioni nel sito di applicazione. Questi dispositivi sono diffusi in paesi come l'Australia e gli Stati Uniti, sebbene ormai il loro utilizzo abbia subito un notevole calo [7, 21].

3.1.2 Preparazioni a uso orale

La scelta della forma farmaceutica da somministrare per via orale agli animali è influenzata dalla differenza del tratto gastrointestinale, dalla dieta e dalle abitudini alimentari dei vari animali. I ruminanti, come bovini e pecore, sono dotati di 3 prestomaci, il rumine, il reticolo e l'omaso nei quali il cibo, perennemente presente, subisce fermentazione batterica in modo continuo. L'elevata presenza di liquido al loro interno ha un effetto diluente, perciò, il principio attivo può essere assorbito più lentamente. I maiali, invece, sono monogastrici per cui la digestione del cibo e l'assorbimento dei farmaci non subisce particolari interferenze [23]. L'apparato gastrointestinale dei polli e degli uccelli in generale è molto diverso da quello dei mammiferi, tra le differenze più rilevanti ci sono l'assenza di denti e quindi l'impossibilità di tritare, la presenza del gozzo e la suddivisione dello stomaco in proventricolo e ventriglio. Il gozzo è un'espansione della faringe a livello cervicale nel quale viene immagazzinato il mangime. Pur non essendo sede di assorbimento dei farmaci, il pH del gozzo può influenzarne

il processo; infatti, il principio attivo somministrato in soluzioni orali può precipitare al suo interno compromettendo l'efficacia del farmaco. Pare che anche la flora batterica del gozzo influenzi l'assorbimento.

La somministrazione di antiparassitario in soluzione ha il vantaggio di attraversare velocemente lo stomaco ed essere subito assorbibile nel duodeno dopo pochi minuti dall'assunzione [24].

Una forma farmaceutica con cui in passato veniva somministrata l'ivermectina, per il controllo delle zecche nei bovini, erano i boli; ora non sono più in commercio nella maggior parte dei paesi [12]. I boli sono compresse o capsule di forma cilindrica, di grandi dimensioni e con un peso che può arrivare a 16 g. Il medicinale era studiato per rimanere a lungo nel rumine grazie alla sua elevata densità ottenuta dall'aggiunta di eccipienti come solfato bicalcico, ferro, argilla e solfato di sodio diidrato. Il bolo contenente ivermectina sfruttava la tecnologia della pompa osmotica, uno schema è riportato nella Figura 15. Era costituito da una membrana semipermeabile esterna e un nucleo interno contenente sali che per osmosi richiamavano acqua rigonfiando, e spingendo il farmaco all'esterno del bolo attraverso un foro posizionato ad una estremità. La somministrazione richiedeva l'uso di una pistola apposita formata da un lungo tubo che veniva inserito nella bocca dell'animale e premendo lo stantuffo, il bolo veniva spinto nell'esofago e deglutito [17, 25].

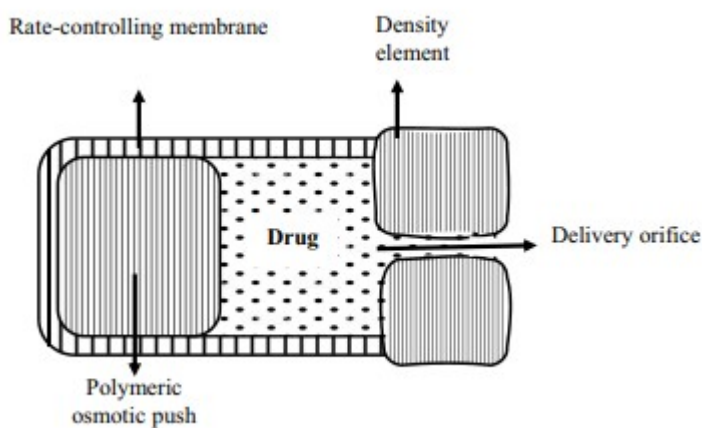


Figura 15: schema di IVOMEC SR bolus [25]

La somministrazione per via orale di soluzioni, sospensioni o emulsioni, a pecore e bovini avviene tramite *drench*; si usa una pistola o una siringa per dispensare il medicinale nella gola

dell'animale. Il liquido deve avere la viscosità tale da garantire l'erogazione senza fatica e non gocciolare dal dispositivo o dalla bocca dell'animale [17].

Il controllo degli ectoparassitici nei maiali può avvenire attraverso la somministrazione di ivermectina sottoforma di premiscele per alimenti medicamentosi, cioè medicinali costituiti da principi attivi ed eccipienti destinati ad essere miscelati ai mangimi ed ottenere così i mangimi medicati. Possono essere formulazioni solide o liquide. Per quelle solide, è importante che le particelle abbiano una dimensione e una geometria più simile possibile a quelle del cibo con cui verranno miscelate, in questo modo si riduce la possibilità che sedimentino e che non vengano ingerite dall'animale. Per ridurre la dispersione della polvere durante l'erogazione di questi prodotti, che causerebbe perdita di farmaco e rischio di inalazione, si aggiungono oli minerali. Come eccipienti di carico si possono usare sottoprodotti dell'industria cerealicola, derivanti da soia, il tutolo, cioè il cuore legnoso della pannocchia di mais, o carbonato di calcio. Un'altra alternativa è quella di somministrare il medicinale sottoforma di granuli, con il vantaggio di avere una maggior scorrevolezza che facilita la miscelazione alla razione di mangime, riducendo gli sprechi. Le formulazioni liquide sono sospensioni o soluzioni prodotte miscelando il principio attivo in opportuni solventi come acqua o glicole propilenico e vengono successivamente gocciolati o spruzzati nel mangime dell'animale [17, 26].

Le miscele medicate sono un valido metodo di somministrazione dei farmaci agli animali in quanto permettono di trattare contemporaneamente un grande numero di animali senza doverli manipolare, riducendo lo stress e i fenomeni irritativi causati, ad esempio, dalle iniezioni. Presentano anche alcuni svantaggi, come il possibile inquinamento del prodotto o la degradazione dei principi attivi più instabili. È il caso dell'ivermectina, che è suscettibile all'idrolisi a pH acidi e questo può comprometterne la biodisponibilità in seguito a somministrazione orale riducendone probabilmente l'efficacia contro gli ectoparassiti. A questo riguardo Xu et al. hanno confrontato l'assorbimento e il rilascio di due formulazioni di ivermectina (IVM) nei suini utilizzando microsfere a rilascio prolungato somministrate per via orale e una premiscela medicata [27].

In un primo esperimento, gli animali vengono divisi in tre gruppi e ognuno viene destinato a una singola dose di IVM in tre diverse formulazioni, il primo gruppo riceve la premiscela, il secondo gruppo riceve le microsfere e al terzo gruppo viene somministrata l'iniezione sottocutanea. Vengono poi eseguiti prelievi di sangue nei primi minuti e poi nelle ore e nei giorni successivi, fino al ventesimo giorno dal trattamento. Nel secondo esperimento si

prendono in considerazione solo la via orale e si alimentano i maiali due volte al giorno per sette giorni e si preleva loro il sangue prima di ogni somministrazione e dopo dieci ore dall'ultima. È emerso che le microparticelle di IVM a rilascio prolungato, rispetto alla premiscela, hanno aumentato la biodisponibilità del farmaco del 17,53%, la concentrazione plasmatica massima viene raggiunta con un ritardo di 2,5 ore e l'emivita è aumentata di 14 ore [27].

Negli avicoli il parassitocida viene somministrato nell'acqua di abbeveraggio. Il prodotto si può presentare come una polvere da ricostituire in acqua o come soluzione concentrata da diluire. Se il farmaco è insolubile in acqua si utilizzano co-solventi come glicerina, etanolo o glicole propilenico ed eventualmente anche veicoli lipofili; inoltre, è importante che non cristallizzi o precipiti in seguito a diluizione. La presenza di eccipienti con funzione di diluente, come destrosio o lattosio, può causare proliferazione fungina o batterica nell'acqua di abbeverata, riducendo il periodo di validità del medicinale. Spesso, quindi, si usano dispositivi automatizzati che preparano e immettono la soluzione, alla concentrazione di farmaco voluta, nel sistema di abbeveraggio man mano che viene consumata. Questo metodo di somministrazione è efficace anche per gli animali più deperiti [17].

3.1.3 Preparazioni a uso parenterale

Le vie parenterali più usate per la somministrazione degli ectoparassitocidi sono la via sottocutanea e intramuscolo. Per quanto riguarda la via intramuscolare, l'assorbimento del farmaco dipende soprattutto dalla formulazione, dal volume iniettato e dal grado di vascolarizzazione del tessuto, ma non ci sono differenze rilevanti tra le specie animali. I problemi che possono verificarsi nella somministrazione di un farmaco per questa via è che questo si depositi tra i fasci muscolari o che crei danni ai tessuti. I volumi somministrati tramite la via intramuscolo sono di circa 10-20 mL.

La somministrazione sottocutanea permette un assorbimento più lento e graduale, prolungando la durata degli effetti perché il tessuto sottocutaneo è poco vascolarizzato, inoltre risulta meno dolorosa, più tollerata e si evita di danneggiare i muscoli (aspetto importante per gli animali DPA). Si somministrano volumi minori, rispetto alla via intramuscolo, pari a 5-10 mL [23, 28].

La prima formulazione di endectocida somministrabile per via parenterale è stata a base di ivermectina all'1% in glicole propilenico (60%) e glicerolo (40%), per via sottocutanea; ma per quelle successive si è ricorsi a veicoli oleosi per ottenere un rilascio prolungato, così da

aumentare il periodo di attività del farmaco e ridurre la frequenza di somministrazione. I veicoli oleosi usati sono oli vegetali come l'olio di sesamo, l'olio di ricino, l'olio di oliva, l'olio di semi di cotone e gli oli di trigliceridi a media catena, in alternativa si ricorre a solventi organici, tra cui l'oleato di etile e il miristato di isopropile. Il tipo di olio influenza la distribuzione del farmaco nei tessuti e quindi l'assorbimento; si è osservato anche che un'elevata viscosità prolunga l'emivita plasmatica. Spesso nelle sospensioni oleose sono aggiunte modiche quantità di acqua con lo scopo di facilitare la dispersione del farmaco e controllare la flocculazione. Queste formulazioni sono assorbite lentamente nel sottocute permangono più a lungo in circolo e nei tessuti bersaglio; inoltre, contengono dosi superiori di farmaco rispetto a quelle tradizionali [8, 29].

Nello studio condotto da Larroza et al., è stata confrontata l'efficacia di due soluzioni iniettive di doramectina (DRM), una classica all'1% (DRM 1%) e una a rilascio prolungato al 3,15 % (DRM 3,5%), somministrate a pecore infestate da acari *Psoroptes ovis* [30]. Gli animali sono stati divisi in tre gruppi: il primo ha ricevuto DRM 1% per via sottocutanea al giorno 0 e al giorno 7, il secondo è stato trattato con DRM 3,15% per via sottocutanea al giorno 0, infine l'ultimo gruppo ha funto da controllo. A inizio esperimento il numero di acari nei due gruppi era pressoché simile e in entrambi i gruppi, dopo 7 giorni, si è misurato un significativo calo di parassiti. La somministrazione doppia della formulazione DRM 1% ha mostrato la massima efficacia al giorno 28 pari a 98,8% ed è rimasta simile fino al termine dell'esperimento al giorno 42, la singola somministrazione della formulazione a rilascio prolungato di DRM 3,15% ha permesso di raggiungere la completa guarigione al giorno 35, eliminando tutti gli acari dagli animali fino a fine esperimento. Dalle analisi ematiche effettuate, come si può osservare in Figura 16, al giorno 28 post-trattamento si è riscontrata una concentrazione di farmaco pari a 8,65 ng/mL per DRM 1% e 29,2 ng/mL per DRM 3,15%; inoltre la biodisponibilità e l'emivita, influenzata dal veicolo, dell'iniezione, erano superiori per la formulazione a rilascio prolungato rispetto a quelle della formulazione classica.

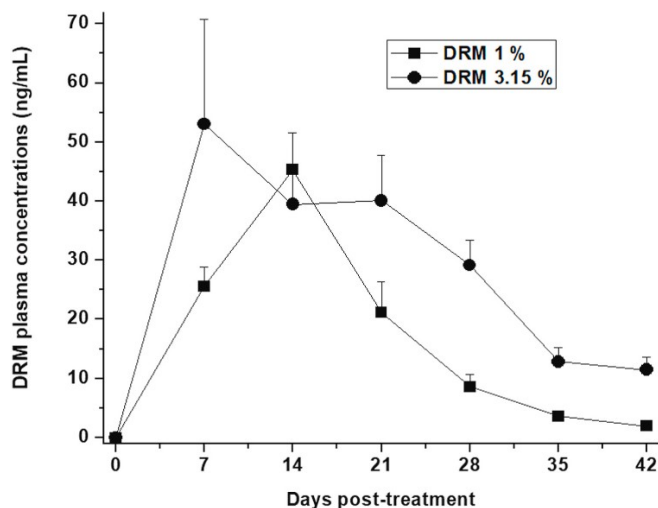


Figura 16: concentrazioni plasmatiche di doramectina dopo somministrazione sottocutanea di una formulazione classica e di una a rilascio modificato [30]

Sebbene si raggiungano concentrazioni più elevate con la formulazione all'1%, dovute alla doppia somministrazione, queste diminuiscono più velocemente rispetto alla formulazione a rilascio prolungato; quest'ultima consente di mantenere concentrazioni superiori per un periodo di tempo più lungo e questo aspetto è essenziale per aumentare l'esposizione dei parassiti al farmaco e debellare l'infestazione. La somministrazione ripetuta, a distanza di 7 giorni, è dovuta alle caratteristiche farmacocinetiche dei lattoni macrociclici nei vari animali, riconducibili alla quantità di tessuto adiposo presente in ogni specie, che trattiene il farmaco riducendone la disponibilità ematica. Infatti, la biodisponibilità e l'emivita di eliminazione sono maggiori nei bovini rispetto ai suini e agli ovini, per i quali è raccomandato di ripetere l'iniezione [12, 30].

Recentemente è stata sviluppata una formulazione a rilascio prolungato di eprinomectina incorporata in un polimero di acido polilattico co-glicolico che permette una protezione fino a 150 giorni contro endo ed ectoparassiti. È stato valutato l'efficacia contro la forma larvale delle mosche *Hypoderma lineatum* responsabili delle miasi nei bovini. Due gruppi di animali hanno ricevuto l'iniezione sottocutanea di eprinomectina al 5% p/v ma in due momenti di maturazione delle larve diversi: a un gruppo il medicinale è stato somministrato subito al giorno 0, quando le larve di mosca erano al primo stadio, all'altro, invece, il giorno 109 nel quale le larve erano al secondo o terzo stadio e avevano già generato le vescicole sulla pelle. L'iniezione di eprinomectina ha dimostrato totale efficacia in entrambi i gruppi; infatti, le larve rinvenute solo negli animali che hanno ricevuto il trattamento al giorno 109 erano già tutte morte. In nessun animale trattato erano presenti larve vive [8, 31].

Negli ultimi anni sono state applicate diverse tecnologie per creare formulazioni iniettabili a rilascio prolungato di IVM, ad esempio sono stati proposti impianti a base di IVM somministrati a bovini e suini per eliminare le zanzare *A. gambiae* vettrici della malaria. L'impianto era formato da un bastoncino costituito da due cilindri concentrici, quello interno contenente il farmaco miscelato con saccarosio e deossicolato di sodio, invece il cilindro esterno di rivestimento era a base di silicone. Dopo la somministrazione nel sottocute, i fluidi corporei sono entrati dalle due estremità dell'impianto sulle quali il silicone non era presente, dissolvendo il cilindro centrale e creando microcanali che hanno permesso un rilascio controllato del farmaco. Successivamente, in un altro studio, la stessa formulazione è stata modificata praticando tre fori sull'impianto in modo da aumentare la velocità di rilascio e le concentrazioni ematiche di IVM, che si sono mantenute a livelli efficaci per 6 mesi. Nonostante l'impianto abbia dimostrato l'attività insetticida con un aumento della mortalità delle zanzare che si sono cibate del sangue bovino contenente IVM rispetto a quelle che hanno avuto contatti solo col gruppo di controllo, è necessario testare la formulazione su un numero più ampio di animali [32].

3.2 FORMULAZIONI PER ANIMALI NDPA

3.2.1 Preparazioni per applicazione cutanea

La via cutanea rappresenta la principale via di somministrazione degli ectoparassitici negli animali NDPA, tuttavia, le differenze anatomiche tra la pelle del cane e del gatto non sono marcate come quelle riscontrate tra le specie DPA.

Nel cane l'epidermide è piuttosto sottile, lo spessore minimo è raggiunto sul ventre, mentre sul naso e nei toruli digitali (chiamati comunemente cuscinetti digitali) è rispettivamente di 0,5 mm e 2 mm, per gran parte costituita da strato corneo. Le ghiandole sudoripare apocrine sono diffuse su tutto il corpo, quelle merocrine sono solo nei cuscinetti plantari. Le ghiandole sebacee sono molto diffuse specialmente nelle razze a pelo duro e corto. L'animale è coperto da una pelliccia folta, ad eccezione della faccia interna delle cosce e dell'addome, dove c'è una peluria rada, sottile e corta che rende visibile la pelle sottostante [14].

La pelle del gatto ha il massimo spessore nella porzione dorsale del collo. Analogamente ai cani, le ghiandole sudoripare merocrine sono circoscritte ai toruli digitali, le restanti sono apocrine. Le ghiandole sebacee sono discretamente sviluppate, ma attorno alle labbra e sul mento sono più concentrate e voluminose. [14].

Gli ectoparassitici ad applicazione cutanea somministrate ai cani e ai gatti si presentano come polveri, preparazioni liquide e collari.

Le polveri aspersorie veicolano l'antiparassitario associato a sostanze inerti e innocue come talco, diossido di titanio, ossido di zinco, acido borico, carbonato di calcio e amido, ma potrebbero assorbire l'umidità e il sebo della pelle agglomerandosi e occludendo la superficie cutanea. Non devono essere usate in presenza di ferite o ascessi, soprattutto se la formulazione include il talco perché porta allo sviluppo di reazioni granulomatoze. Nonostante siano facili da somministrare, l'efficacia del trattamento dipende da quanto riescono a penetrare nel pelo ed è limitata nel tempo [8, 33].

Le preparazioni liquide includono shampoo, soluzioni, sospensioni ed emulsioni.

Lo shampoo combina l'azione detergente, data dalla presenza di tensioattivi, con quella antiparassitaria. I tensioattivi possono agire anche da emulsionanti, agenti schiumogeni, agenti disperdenti o agenti bagnanti; i più usati sono i polisorbati, esteri di acidi grassi a basso peso molecolare, olio di ricino etossilato, alchil solfati e alchil solfonati. Lo shampoo offre il vantaggio di rimuovere velocemente i parassiti da tutto il corpo e può essere utilizzato ripetutamente. Di contro, l'effetto è solo temporaneo, col rischio di nuove infestazioni e potrebbero restare residui di prodotto sul pelo dell'animale [8, 33].

Le soluzioni, emulsioni o sospensioni possono essere applicate tramite spray, spugnature, immersione e spot-on. Con gli spray il principio attivo viene erogato attraverso un apposito contenitore pressurizzato o con pompa manuale e viene depositato sul pelo dell'animale. I prodotti liquidi possono essere applicati anche tramite spugnature e per immersione, hanno entrambi un buon potere di penetrazione attraverso il pelo e si distribuiscono più uniformemente rispetto agli spray. I problemi evidenziati con questi due metodi di somministrazione sono l'efficacia limitata nel tempo, il rischio di accumulo se non vengono rimossi adeguatamente [23, 33].

Gli ultimi prodotti liquidi sono gli spot-on, cioè gli analoghi dei pour-on. A differenza di questi ultimi, gli spot-on vengono applicati, tramite fialette monodose, sulla cute del gatto o del cane in uno o più punti, sul collo o lungo la colonna vertebrale, così da impedire la rimozione per leccamento del prodotto. Sono preparazioni concentrate, il volume applicato è inferiore rispetto a quello somministrato al bestiame e la dose di principio attivo è proporzionale al peso dell'animale. Le formulazioni sono identiche ai pour-on, contengono gli stessi cosolventi e

tensioattivi; se gli spot-on sono a base di isoxazoline, per poter esplicitare l'effetto sistemico, hanno in aggiunta i *penetration enhancer* contenuti anche nei pour-on.

Le preparazioni liquide ad applicazione cutanea possono includere tra gli eccipienti gli agenti antiossidanti come il butilidrossitoluene (BHT), il butilidrossianisolo (BHA) e l'acido ascorbico, gli agenti chelanti come l'acido etilendiamminotetracetico (EDTA) e i conservanti come i parabeni, l'alcol benzilico e l'acido benzoico. Sono fondamentali anche i tensioattivi, come quelli contenuti negli shampoo, sia nelle emulsioni, sia nelle sospensioni; nelle prime svolgono un effetto emulsionante, mentre nelle seconde agiscono da agenti bagnanti [8].

Pfister et al., hanno valutato l'efficacia di un trattamento spot-on a base di permetrina confrontandola con quella di una compressa per via orale a base di fluralaner. Il piretroide si è distribuito sullo strato corneo a partire dai punti di applicazione, ma è risultato che la formulazione non ha raggiunto tutte le regioni corporee in uguale misura e concentrazione; in particolare la pancia e le porzioni distali delle zampe posteriori avevano concentrazioni di permetrina notevolmente inferiori rispetto al dorso. Inoltre, la riduzione della sua presenza in queste aree è avvenuta più velocemente rispetto a quanto avvenuto sulla schiena. Questo significa che l'efficacia del trattamento viene influenzata dalla desquamazione dello strato corneo, dal contatto con acqua e dalla toelettatura svolta dall'animale stesso. La permetrina ha azione acaricida, soprattutto dopo 48 ore dalla somministrazione; l'efficacia massima è raggiunta tra il settimo e il quattordicesimo giorno, dopo di che comincia a calare. La repellenza nei confronti delle zecche varia soprattutto a seconda della specie presa in considerazione e al numero di giorni post-trattamento. Ad esempio, l'efficacia repellente di una formulazione contenente imidacloprid e permetrina nei confronti di *R. sanguineus* è stata dell'83% dopo 3 giorni dalla somministrazione; ma il valore è sceso al di sotto del 60% già dopo una settimana. La permetrina dimostra anche effetti adulticidi e larvicidi contro le pulci di *C. felis* superiori al 99% già entro 24 ore dall'applicazione dello spot-on. La repellenza contro le pulci è più difficile da ottenere, perché questi insetti, non appena arrivano sull'ospite, consumano subito il pasto di sangue in pochissimi minuti. È stato riportato infatti, che anche in presenza di un trattamento di un repellente combinato a un insetticida, il 92% delle pulci riesce comunque a mordere l'animale prima di morire. Si comprende che gli antiparassitari che permangono sulla cute, a differenza delle compresse orali, non riescono a distribuirsi abbastanza omogeneamente da proteggere tutto il corpo e la loro efficacia tende a ridursi nel tempo. A loro vantaggio c'è

l'azione repellente che, impedendo agli ectoparassiti di avvicinarsi all'animale, riduce, anche se non del tutto, i rischi che comporta il loro pasto di sangue [34].

L'ultimo trattamento contro gli ectoparassiti applicabile sulla cute degli animali NDPA è il collare antiparassitario. Esistono tre tipi di collari, quelli a matrice, a serbatoio e meccanici [33].

I dispositivi matriciali sono costituiti da una matrice polimerica, solitamente di polivinilcloruro (PVC), e sono ottenuti versando o spruzzando il principio attivo in forma liquida, sul materiale polimerico in polvere e successivamente miscelati a caldo ed estrusi. I primi collari di questo tipo ad essere creati contenevano il diclorvos che essendo un liquido altamente volatile, aveva un rilascio dal collare costante, ma anche all'interno del confezionamento prima dell'uso, riducendo la durata dell'attività del collare e aumentando gli effetti tossici all'inizio del trattamento. In seguito, sono stati usati principi attivi con una pressione di vapore insufficiente a consentirne il rilascio dal collare; il problema è stato risolto aggiungendo alla formulazione degli agenti porosi come le acetaldeidi alogenate. Infatti, la temperatura a cui si stampa la resina è sufficiente a far evaporare queste sostanze, che lasciano così canali e pori sulla superficie del collare, da cui fuoriusciranno i vapori di antiparassitario. Infine, per facilitare il rilascio di principi attivi incorporati nel collare matriciale sottoforma di polveri, come i carbammati, è stato aggiunto un agente plasticizzante, lo ftalato di diottile, che riduce la rigidità del materiale polimerico. Successivamente sono stati usati altri polimeri, come il poliuretano e i polimeri di etilene vinilacetato che evitano il rigonfiamento della matrice quando esposta all'acqua e il conseguente rilascio di farmaco. Tra gli eccipienti, sono stati aggiunti anche agenti disperdenti come gli acidi grassi, gli esteri di acidi grassi e gli oli siliconici per favorire la liberazione del principio attivo dal collare [33].

I sistemi a serbatoio sono formati da una matrice centrale contenente il principio attivo, prodotta con le stesse tecniche formulative dei collari matriciali, la quale è avvolta da un rivestimento solido di tessuto o di polimero. La fuoriuscita del farmaco avviene attraverso gli spazi tra le maglie o i fori presenti sulla superficie del collare. I sistemi a serbatoio sono stati caricati anche con pellet o geli a base di cera solida, di olio minerale e di solvente idrocarburico. I collari a serbatoio fibrosi invece, sono costituiti da fibre naturali o sintetiche sulle quali è stato spruzzato l'antiparassitario. Un'ultima tipologia di serbatoi sono quelli che liberano il farmaco attraverso particelle di materiale inerte come silicati e carbonati che fungono, quindi, da vettori per l'insetticida [33].

I dispositivi meccanici possono agire rilasciando il farmaco in piccole dosi e a velocità costante grazie ad una piccola pompa oppure possono contenere materiali adesivi all'interno delle camere del collare ed intrappolare fisicamente gli ectoparassiti [33].

Negli ultimi anni si stanno diffondendo sempre di più anche i collari e i dispositivi a ultrasuoni per la protezione dalle punture da artropodi perché pare che una frequenza compresa tra 25 e 65 Hz possa disturbare attività nervosa del parassita che viene indotto ad allontanarsi. Tuttavia, la loro efficacia è oggetto di controversie perché sebbene siano ampiamente commercializzati, non è stato pubblicato alcun rapporto che dimostra che gli ultrasuoni siano efficaci nel respingere gli artropodi [35]. A. Pathawong et al., hanno valutato l'efficacia di alcuni di questi dispositivi contro la zecca paralizzante australiana *I. holocyclus*. Sono stati testati nove strumenti a ultrasuoni, di cui due destinati all'uso domestico, mentre i restanti per l'uso su animali da compagnia e cavalli. Per alcuni di questi il produttore non ha nemmeno riportato la frequenza emessa. Per i test, 20 zecche sono state inserite in una sorta di scatola nel quale è stato appeso il dispositivo ad ultrasuoni da testare; a questa era collegata, tramite un piccolo corridoio di cartone, un'altra scatola, priva di dispositivo, nella quale le zecche si sarebbero potute rifugiare se disturbate. Al termine, delle prove si sono contate le zecche presenti nelle due camere e nel corridoio. Ogni dispositivo ha dimostrato di aver avuto un effetto repellente verso le zecche, ma solo di lieve entità, perché alcune sono fuggite nella scatola più distante dagli ultrasuoni, mentre la maggior parte sono rimaste in quella in cui era collocato lo strumento. Complessivamente, la repellenza è stata inferiore al 20% e ci si aspettano risultati ancora più bassi nell'applicazione in campo, dove l'ambiente aperto farebbe disperdere meglio le onde sonore. Osservando il comportamento delle zecche in ogni test, si è però notato che queste si muovevano più lentamente o si erano fermate. Il risultato di questo studio è in linea con quello di molti altri che valutavano l'efficacia dell'effetto repellente dei dispositivi a ultrasuoni verso diversi tipi di artropodi, tra cui le pulci, concordando che non sono raccomandabili [35].

3.2.2 Preparazioni a uso orale

Il trattamento degli ectoparassiti per via orale nei cani e nei gatti avviene somministrando compresse masticabili appetibili a base di isoxazoline e lattoni macrociclici, da soli o in doppia o triplice associazione con antelmintici per ampliare lo spettro d'azione. La somministrazione delle compresse agli animali si rivela spesso difficoltosa e stressante sia per il proprietario che per il paziente, quindi, è necessario aumentare la compliance con particolari eccipienti

aromatizzanti [17]. In passato per aumentare la palatabilità delle compresse si usavano aromi di formaggio, latte, aglio e di frutta, ma non essendo parte della normale dieta di cani e gatti, non raggiungevano elevati livelli di appetibilità. Successivamente sono stati utilizzati sottoprodotti di derivazione animale, come frattaglie di carne e pesce, ma creavano problemi di irrancidimento della forma farmaceutica, non del tutto risolvibili con l'uso di antiossidanti; in più, si osservano livelli di carica microbica non accettabili. Al momento, gli aromi più sicuri e più comunemente apprezzati dai cani e dai gatti sono a base di pollo, manzo, maiale e pesce. Anche la composizione generale della formulazione risulta essere importante, spesso vengono inclusi eccipienti come il lattosio monoidrato, la croscarmellosa sodica, il povidone K30, che oltre ad avere funzione legante o disgregante, riescono a mascherare il sapore amaro di molti farmaci. Pare che gli animali abbiano preferenze anche in termini di colore e dimensione delle forme farmaceutiche, infatti, la palatabilità maggiore si riscontra con le compresse quadrate, ovali o a forma di trifoglio e di colore beige/marrone. Un altro aspetto da tenere in considerazione durante la produzione di compresse masticabili è la durezza del prodotto finito perché influenza anche l'appetibilità; infatti, il 50% dei gatti rifiuta compresse troppo dure [8, 36].

Dato che le compresse rilasciano il farmaco nella circolazione sistemica, il turnover epidermico e le attività dell'animale non compromettono l'efficacia del trattamento come si verifica invece per i trattamenti ad applicazione cutanea. Inoltre, gli ectoparassitici che vengono somministrati per via orale, cioè le isoxazoline, proteggono tutte le aree del corpo in egual misura, ma non avendo effetto repellente non impediscono al parassita di mordere l'animale. Infatti, sebbene le compresse a base di fluralaner abbiano dimostrato un effetto acaricida contro le zecche superiore al 99% che persiste per 12 settimane, la trasmissione di agenti patogeni non può essere esclusa completamente. Questo perché la morte dell'insetto avviene solo dopo l'ingestione del sangue in cui è presente il farmaco [34].

3.2.3 Preparazioni a uso parenterale

L'unico principio attivo ad azione ectoparassitica somministrato per via iniettiva sottocutanea nel cane è il fluralaner e i veicoli idrofili e lipofili adoperati sono gli stessi usati per gli animali DPA.

Petersen et al. hanno confrontato l'efficacia di una singola somministrazione annuale di fluralaner sottoforma di sospensione iniettabile con quella di compresse contenenti afoxolaner,

assunte con cadenza mensile per un anno, per il controllo di zecche e pulci nei cani. In particolare, gli obiettivi finali fissati erano la percentuale di pazienti privi degli ectoparassiti dopo un anno di trattamento e la percentuale di riduzione degli stessi. Nello studio sono stati reclutati cani che erano già infestati naturalmente da almeno 4 e 5 zecche e pulci vive. L'iniezione ha ridotto del 99% il numero dei due parassiti, mentre l'assunzione orale di afoxolaner ha permesso una riduzione superiore al 97% del numero di pulci e superiore al 98% del numero di zecche. Inoltre, i problemi dermatologici riscontrati sui cani, compatibili con la dermatite allergica causata dal morso delle pulci, si sono risolte in tutti i cani di entrambi i gruppi entro 84 giorni post trattamento. I due farmaci non hanno mostrato interazioni associate a vaccinazioni o altre terapie farmacologiche somministrate ai cani durante l'anno. Lo studio mostra quindi che le due forme farmaceutiche contenenti isoxazoline hanno un'efficacia paragonabile contro pulci e zecche [37].

Nonostante la somministrazione parenterale di lattoni macrociclici ai cani non venga sfruttata per l'effetto ectoparassitocida, è interessante ugualmente sottolineare la presenza di una particolare formulazione a rilascio prolungato indicata per la prevenzione della filariosi. Si chiama Filaprev[®], ed è un impianto contenente ivermectina e acido polilattico, destinato alla somministrazione sottocutanea. Il prodotto si presenta come una siringa riutilizzabile, in cui è inserito un ago contenente l'impianto formato da acido polilattico, un polimero biodegradabile che quindi si dissolve nel corpo dopo aver liberato il farmaco. Altri polimeri utilizzabili sono l'acido poliglicolico, il policaprolattone e l'acido polilattico co-glicolico. Questi dispositivi vengono spesso prodotti per compressione, ma anche con altre tecnologie come l'estrusione a caldo, la stampa in 3D, la colata in solvente o lo stampaggio a iniezione. I vantaggi degli impianti sono la somministrazione in zone specifiche, il rilascio locale del farmaco che riduce gli effetti collaterali sistemici, l'adattabilità a molte dosi e la possibilità, per quelli non biodegradabili, di essere rimossi in caso di segni di tossicità [28, 38].

4. ECTOPARASSITICIDI E SICUREZZA ALIMENTARE

L'impiego degli ectoparassitici nella medicina veterinaria è fondamentale per prevenire e trattare le infestazioni da artropodi, preservando così il benessere animale, la salute pubblica e la produttività della filiera zootecnica. Tuttavia, la somministrazione degli antiparassitari, e in generale di tutti i medicinali, agli animali DPA pone il problema della presenza di residui di principi attivi, o dei loro metaboliti, all'interno dei tessuti edibili e dei derivati animali, come uova e latte.

La loro persistenza dipende dalle proprietà chimico-fisiche della molecola, prima tra tutte la lipofilia, dalle scelte formulative adottate e dalla via di somministrazione; ad esempio, l'iniezione sottocutanea di formulazioni a rilascio prolungato dilata i tempi di liberazione del principio attivo e di conseguenza la sua eliminazione. Anche le differenze relative alla composizione corporea degli animali influiscono sulla cinetica e, quindi, sui tempi di eliminazione dei farmaci; ad esempio, i suini, presentando un tessuto adiposo più esteso rispetto ai bovini, mostrano maggiore accumulo di ivermectina, soprattutto se somministrata per via iniettiva sottocutanea [12].

La necessità di somministrare i farmaci agli animali DPA e di tutelare, al contempo, la salute umana ha portato allo sviluppo di una normativa stringente riguardo la presenza dei loro residui nei tessuti e nei prodotti edibili.

Il caposaldo è rappresentato dal Regolamento (CE) n. 470/2009 che stabilisce le procedure per determinare i limiti dei residui delle sostanze farmacologicamente attive negli alimenti di origine animale. Il regolamento definisce i residui come *“tutte le sostanze farmacologicamente attive, espresse in mg/kg o µg/kg sulla base del peso fresco, siano esse sostanze attive, eccipienti o prodotti della degradazione, e i loro metaboliti che rimangono negli alimenti ottenuti da animali”* [39].

Inoltre, prevede che, affinché le sostanze farmacologicamente attive vengano autorizzate all'uso nei medicinali veterinari per gli animali DPA, debbano essere sottoposte alla valutazione del rischio a cui l'uomo potrebbe incorrere in seguito alla loro ingestione. La determinazione del rischio è affidata al Comitato per i medicinali veterinari (CVMP) dell'Agenzia europea per i medicinali (EMA) [39]. I principi metodologici per la valutazione del rischio sono stabiliti dal Regolamento (UE) n. 782/2018 e il processo si divide in 3 fasi: valutazione della sicurezza,

identificazione e quantificazione dei residui negli alimenti e determinazione dell'esposizione umana ai residui e fissazione dei limiti [40].

Valutazione della sicurezza

Per prima cosa, si compiono studi tossicologici e farmacologici sugli animali da laboratorio, ai quali si somministra la sostanza in esame per via orale, cioè la stessa via con la quale la assumerà anche il consumatore tramite l'alimento. Si effettua una caratterizzazione del profilo farmacodinamico e farmacocinetico. Durante gli studi tossicologici si valutano gli effetti del farmaco a livello riproduttivo, sullo sviluppo dell'embrione e del feto e la sua capacità di indurre cancerogenesi, immunogenicità e neurotossicità. La neurotossicità ritardata causata dagli organofosfati deve essere testata sulle galline, perché sono più sensibili degli animali da laboratorio.

Con i risultati di questi studi si creano curve dose-risposta, da cui si ricava la dose massima di farmaco che non produce effetti avversi (NOAEL). A questo punto, si calcola la dose giornaliera ammissibile (DGA), cioè la quantità di sostanza che può essere assunta quotidianamente, dall'uomo attraverso l'alimentazione, senza correre rischi rilevanti per la salute facendo il rapporto tra NOAEL e un fattore di incertezza (FI):

$$DGA \text{ (mg/kg di peso corporeo/giorno)} = \frac{NOAEL \text{ (mg/kg di peso corporeo/giorno)}}{FI}$$

Il fattore di incertezza è usato per poter applicare i dati derivanti da animali da laboratorio all'uomo. Il suo valore standard è pari a 100, ottenuto dal prodotto di due FI che tengono conto delle differenze di sensibilità interspecifiche, esistenti tra l'uomo e gli animali da laboratorio (FI=10), e intraspecifiche, cioè le differenze di sensibilità presenti all'interni della popolazione umana (FI=10). Per le sostanze che hanno mostrato effetti teratogenici o genotossici, il fattore di incertezza può esseri pari a 1000. [39, 40]

Identificazione e quantificazione dei residui negli alimenti di origine animale

Successivamente, si eseguono studi per quantificare i residui del farmaco all'interno dei tessuti o dei prodotti animali, valutandone la deplezione nel tempo e la percentuale di ogni metabolita. Lo scopo è identificare il residuo marker, che il Reg. (UE) n. 782/2018 definisce come “*un residuo la cui concentrazione ha un rapporto noto con la concentrazione dei residui totali in un tessuto commestibile*”, cioè quel residuo la cui concentrazione cala in modo proporzionale e noto rispetto ai residui totali e che risulta facilmente isolabile e quantificabile. In sostanza,

funge da residuo rappresentativo dei residui totali, semplificando lo svolgimento delle analisi successive. Lo studio permette di individuare anche il tessuto target, cioè il tessuto nel quale la concentrazione di metaboliti decresce più lentamente [40].

La ricerca del residuo marker deve essere condotta nel rispetto delle linee guida VICH GL46 che armonizzano le modalità per determinare qualitativamente e quantitativamente i residui. Questi studi, a differenza dei precedenti, vengono eseguiti sugli animali target del medicinale veterinario, cioè bovini, ovini, suini o pollame; con almeno 12 animali per specie divisi in 4 gruppi. Le vacche in lattazione devono essere almeno 8 e le galline ovaiole in numero sufficiente da poter raccogliere 10 uova. Viene somministrato loro il farmaco radiomarcato, preferibilmente con il ^{14}C o in alternativa con ^{32}P , ^{15}N , ^3H o ^{35}S , così da permetterne il tracciamento nei tessuti commestibili. La formulazione somministrata deve essere, se possibile, quella finale per la quale si chiede l'autorizzazione alla commercializzazione; altrimenti, se non è ancora stata sviluppata una formulazione definitiva, si può utilizzare un suo prototipo. Anche la via di somministrazione deve essere quella prevista dal medicinale, ma nel caso in cui fosse richiesta l'assunzione con mangime o acqua di abbeverata, per lo svolgimento del test viene preferito il sondino gastrico o il bolo per assicurarsi che tutti gli animali ricevano la quantità prescritta. Gli animali ricevono la dose massima di farmaco per il tempo necessario affinché la concentrazione raggiunga lo stato stazionario nei tessuti edibili o per la durata massima prevista dal trattamento [41].

Successivamente si pratica l'eutanasia a ciascuno dei 4 gruppi di animali ad una distanza di tempo prestabilita l'uno dall'altro e si prelevano sufficienti quantità di tessuti edibili per poter effettuare le analisi, come riportato in Tabella 4 [41].

Si possono campionare anche altri tessuti, indicati in Tabella 5, a scopo di approfondire la valutazione della sicurezza e suggerire il tessuto possibile oggetto di prelievo per lo studio di deplezione successivo.

Nonostante le linee guida VICH non lo prevedano, possono essere raccolti anche campioni di feci, urina e sangue, utili per svolgere un'analisi più approfondita e completa e per valutare il rischio ambientale.

Tessuto edibile	Specie animale		
	<i>Bovino/ovino</i>	<i>Suino</i>	<i>Pollame</i>
<i>Muscolo</i>	Lombata	Lombata	Petto
<i>Muscolo sede dell'iniezione</i>	Circa 500 g Dimensioni campione: som. IM: Ø 10 cm, h 6 cm som. SC: Ø15 cm, h 2,5 cm	Circa 500 g Dimensioni campione: som. IM: Ø 10 cm, h 6 cm som. SC: Ø 15 cm, h 2,5 cm	Tutto il muscolo
<i>Fegato</i>	Sezione trasversale dei lobi	Sezione trasversale dei lobi	Intero
<i>Rene</i>	Un campione da entrambi	Un campione da entrambi	Intero
<i>Grasso</i>	Grasso che circonda i reni	-	-
<i>Pelle/grasso</i>	-	Pelle e grasso in proporzioni naturali	Pelle e grasso in proporzioni naturali
<i>Latte</i>	Latte intero	-	-
<i>Uova</i>	-	-	Un campione di tuorlo e di albume

Tabella 4: campioni di tessuti edibili prelevati dagli animali [41 (modificata)]

Tessuto edibile	Specie animale		
	<i>Bovino/ovino</i>	<i>Suino</i>	<i>Pollame</i>
<i>Ventriglio</i>	-	-	Intero
<i>Cuore</i>	Sezione trasversale	Sezione trasversale	Intero
<i>Piccolo intestino</i>	Più porzioni, privo del contenuto	Più porzioni, privo del contenuto	-
<i>Altri tessuti</i>	Più porzioni	Più porzioni	Più porzioni

Tabella 5: campioni aggiuntivi di tessuti edibili prelevabili dagli animali [42]

Per ogni campione prelevato si determina la radioattività totale attraverso il conteggio a scintillazione liquida e successivamente vengono separati e identificati i vari metaboliti del farmaco sfruttando la gas cromatografia, la cromatografia liquida ad alta performance, la cromatografia su strato sottile o la spettrofotometria di massa. I metaboliti presenti in concentrazioni superiori ai 100 µg/kg o che rappresentano più del 10% del residuo di farmaco totale sono considerati metaboliti principali; se si riscontrano quantità inferiori non è necessaria una differenziazione più approfondita. Il residuo marker può essere uno dei metaboliti principali o il principio attivo di partenza o anche una loro combinazione [41].

Prima di procedere oltre, si eseguono studi metabolici in vitro o in vivo, sulla stessa specie animale sottoposta alle prove di tossicità utili a definire la dose giornaliera ammissibile, e si comparano con quelli svolti sugli animali DPA. In questo modo si accerta che anche gli animali da laboratorio producano gli stessi metaboliti principali, dimostrando che nei test tossicologici viene valutata efficacemente la sicurezza dei residui che l'uomo assumerà tramite l'alimentazione. Se la specie a cui è destinato il medicinale produce metaboliti non riscontrati negli animali da laboratorio, queste sostanze devono essere oggetto di nuove prove di sicurezza [40].

Dopo aver identificato il residuo marker, si procede alla valutazione della sua deplezione in ogni tessuto, seguendo le linee guida VICH GL48. Come in precedenza, gli animali DPA sottoposti alle analisi sono quelli a cui è destinato il medicinale, ogni specie è divisa in 4 gruppi con almeno 4 animali ciascuno. Le vacche da latte devono essere minimo 20; la formulazione e la via di somministrazione adoperate sono le stesse previste dal medicinale da immettere in commercio. Nel caso in cui sia somministrabile sia per via sottocutanea che intramuscolo si devono svolgere uno studio di deplezione per ogni via; al contrario, se più formulazioni contenenti lo stesso principio attivo sono applicabili per via topica in più modalità, ad esempio spray o immersione, è sufficiente un solo studio purché si somministri la dose più alta prevista. Per determinare la deplezione dei residui solamente nel sito di iniezione, si può somministrare il medicinale allo stesso animale, su due siti diversi a distanza di alcuni giorni, ad esempio lato sinistro al giorno 0 e lato destro del collo al giorno 4; in questo modo si limita il numero di animali sottoposti al test [42].

In seguito, si sottopone all'eutanasia un gruppo di animali per volta e si procede al prelievo degli stessi tessuti riportati in Tabella 4; inoltre, si raccoglie un tessuto aggiuntivo, tra quelli riportati in Tabella 5, a seconda delle abitudini alimentari del Paese, idealmente dovrebbe essere il tessuto che ha mostrato la quota di residui maggiore o che ha avuto il tempo di deplezione maggiore durante le analisi di identificazione dei residui svolte precedentemente.

Per i farmaci somministrati per via iniettiva sottocutanea e intramuscolo, oltre ai campioni riportati in Tabella 4, è opportuno prelevare anche i tessuti circostanti al sito di iniezione e non solo il muscolo, in quanto alcuni residui potrebbero restare localizzati in sede e non raggiungere la circolazione sistemica. Le linee guida VICH forniscono alcuni suggerimenti a riguardo, come l'asportazione di una porzione di tessuto circolare di circa 300 g attorno al campione

primario, ma questa strategia non è applicabile per gli animali di piccola taglia; altrimenti si preleva un campione di forma tale da includere anche le aree in cui si è sviluppata irritazione.

Per le formulazioni ad applicazione topica, che possono lasciare residui in loco, è opportuno asportare, oltre ai campioni indicati in Tabella 4, anche il muscolo, il grasso sottocutaneo e la pelle in corrispondenza del sito di applicazione.

Il prelievo del latte viene effettuato da tutte le vacche, quotidianamente, ogni 12 ore, cioè la normale frequenza di mungitura nella pratica zootecnica; sono ammesse eventualmente anche mungitura ogni 6 o 24 ore. Il medicinale è somministrato appena dopo la mungitura e il campionamento del latte avviene dopo la fine del trattamento se questo dura più giorni; ma se il medicinale è candidato a ricevere un tempo di attesa di 0 giorni, viene analizzato tutto il latte prodotto durante il trattamento. La raccolta prosegue finché i residui presenti scendono al di sotto del limite stabilito.

Le uova vengono raccolte da almeno dieci galline ovaiole in qualsiasi momento della deposizione, sia durante il periodo di trattamento che in seguito all'ultima somministrazione di medicinale [42].

Esposizione umana ai residui e determinazione dei limiti dei residui

Dopo aver misurato la dose giornaliera ammissibile e la quantità dei residui di farmaco presenti nei tessuti animali, bisogna stabilire l'esposizione complessiva dell'uomo a tali residui. Per fare questo si ipotizza che un consumatore, del peso medio di 60 kg, assuma quotidianamente tutto il quantitativo di tessuti o prodotti provenienti dalla stessa specie animale inclusi nel cosiddetto "paniere alimentare standard", riportato in Tabella 6 [40].

Mammiferi		Pollame	
Muscolo	0,300 kg	Muscolo	0,300 kg
Grasso	0,050 kg ⁽¹⁾	Grasso e pelle	0,090 kg
Fegato	0,100 kg	Fegato	0,100 kg
Rene	0,050 kg	Rene	0,010 kg
Latte	1,500 kg	Uova	0,100 kg

(1) (Per i suini, grasso e pelle in proporzioni naturali)

Tabella 6: paniere alimentare standard [40]

Basandosi sulle curve di deplezione dei residui totali di ogni tessuto, che indicano come la concentrazione dei residui diminuisce nel tempo, si moltiplica la concentrazione dei residui totali rilevati in un determinato intervallo di campionamento per la quantità di prodotto corrispondente presente nel paniere.

Questo calcolo si ripete per ogni momento di campionamento, finché si trova il valore di residui totali che è inferiore alla DGA; le concentrazioni riscontrate nei singoli tessuti in quel momento corrisponderanno quindi ai rispettivi limiti massimi di residuo.

Infine, per verificare l'adeguatezza e la sicurezza dei LMR proposti, si calcola l'assunzione giornaliera massima teorica (TMDI) ipotizzando che il contenuto del paniere alimentare contenga i residui ai massimi livelli consentiti.

Se la TMDI dovesse superare la dose giornaliera ammissibile sarebbe necessario scegliere, dalle curve di deplezione, la concentrazione del residuo e il relativo momento di campionamento del tessuto successivi; quindi far passare più tempo così da far diminuire ulteriormente la quantità dei residui.

Se la TMDI è minore della DGA, il comitato per i medicinali veterinari dell'EMA approva i limiti massimi dei residui proposti ed emette il parere positivo alla Commissione europea.

Poiché gli studi di valutazione del rischio atti a determinare il limite massimo dei residui sono eseguiti solo sulle cosiddette "specie maggiori", cioè bovini, ovini da carne, suini e polli, il Regolamento n. 470/2009 dichiara la possibilità di ottenere i LMR per le specie minori (che include ogni specie diversa dalle specie maggiori) tramite estrapolazione, le cui modalità sono definite dal Regolamento (UE) n. 880/2017 [39]. Tale regolamento specifica la possibilità di estrapolare il LMR sulla base della similarità dei profili metabolici, in modo da assicurare la presenza degli stessi residui nelle specie, e mantenere invariato il contenuto del paniere alimentare. Le specie tra le quali è concessa l'estrapolazione sono riportate in Tabella 7 [4].

Categoria	LMR esistenti	Estrapolazione a
Ruminanti	Bovini (carne)	Tutti gli altri ruminanti (carne) eccetto gli ovini
	Ovini (carne)	Tutti gli altri ruminanti (carne) eccetto i bovini
	Bovini e ovini (carne)	Tutti i ruminanti (carne)
	Latte di bovini	Latte di tutti i ruminanti
Monogastrici	Suini	Tutti i monogastrici
Uccelli	Polli e uova	Pollame e uova di pollame
Altro	Bovini, ovini o suini	Equini e conigli
	Se LMR identico per ruminanti e monogastrici	Tutti i mammiferi
	Se LMR identico per bovini (o ovini), suini e pollame	Tutte le specie da produzione alimentare (eccetto i pesci)

Tabella 7: estrapolazione da specie maggiore a specie minore [4 (modificato)]

L'extrapolazione è concessa da una specie maggiore ad una minore, purché siano monogastrici o ruminanti entrambi, e tra gli stessi tipi di tessuto o prodotto. Ad esempio, si può estrapolare il LMR dal fegato di bovino al fegato di capra ma non da fegato di bovino a rene di capra. Per l'extrapolazione del LMR nel latte, deve essere già stato definito il limite per la sostanza in questione nella specie maggiore [4].

Sulla base della valutazione del rischio redatta dal comitato dell'EMA, la Commissione europea può stabilire per ogni sostanza: (a) un limite massimo di residui (LMR), (b) l'assenza della necessità di stabilire un LMR (c), un LMR provvisorio o (d) il divieto di somministrare la sostanza. La provvisorietà è fissata se i dati scientifici sono incompleti ed è valida 5 anni, prolungabile ulteriormente di altri 2 anni, solo se si dimostra che il prolungamento è essenziale per terminare gli studi scientifici in corso [39].

Il limite massimo di residui può essere fissato, oltre che secondo il parere dell'EMA, anche per decisione della Commissione del Codex Alimentarius, istituita dalla Food and Agriculture Organization (FAO) e dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), sulla quale la Comunità europea non può obiettare. Il Codex Alimentarius è un insieme di testi e norme riguardante qualsiasi tipo di alimento destinato alla vendita, ed essendo adottato a livello internazionale, permette di armonizzare la definizione dei requisiti degli alimenti, tutelare la

salute dei consumatori e assicurare un commercio equo. Gli aspetti discussi sono molti, tra cui, oltre che i residui dei medicinali veterinari e dei pesticidi, anche gli additivi alimentari, l'igiene, l'etichettatura e le ispezioni. Le norme del Codex sono redatte sulla base di considerazioni scientifiche obiettive provenienti da istituti di ricerca indipendenti o a seguito di colloqui organizzati FAO e dall'OMS. Il Codex Alimentarius funge da standard di riferimento utilizzabile dagli Stati membri come base per la loro legislazione sanitaria; tuttavia, i singoli Stati possono anche fissare requisiti alimentari più restrittivi [43].

I valori dei limiti massimi dei residui negli alimenti di origine animale sono elencati nella tabella 1 dell'allegato del regolamento (UE) n. 37/2010; nella Tabella 8 vengono riportate quelle relative ai farmaci ad azione ectoparassiticide [44].

Sostanze farmacologicamente attive	Residuo marcatore	Specie animale	LMR	Tessuti campione	Condizioni o restrizioni
Permetrina	Permetrina (somma degli isomeri)	Bovini	50 µg/kg 500 µg/kg 50 µg/kg 50 µg/kg 50 µg/kg	Muscolo Grasso Fegato Rene Latte	-
Cipermetrina	Cipermetrina (tutti gli isomeri)	Tutti i ruminanti	20µg/kg 200µg/kg 20 µg/kg 20 µg/kg 20 µg/kg	Muscolo Grasso Fegato Rene Latte	-
Deltametrina	Deltametrina	Tutti i ruminanti	10 µg/kg 50 µg/kg 10 µg/kg 10 µg/kg 20 µg/kg	Muscolo Grasso Fegato Rene Latte	-
Flumetrina	Flumetrina (somma di isomeri trans-Z)	Bovini	10 µg/kg 150 µg/kg 20 µg/kg 10 µg/kg 30 µg/kg	Muscolo Grasso Fegato Rene Latte	-
		Ovini	10 µg/kg 150 µg/kg 20 µg/kg 10 µg/kg	Muscolo Grasso Fegato Rene	Non usare in animali che producono latte per il consumo umano

Tabella 8: elenco dei farmaci ectoparassitici per gli animali DPA e relativi limiti massimi dei residui [44 (modificata)] (segue)

Phoxim	Phoxim	Tutte le specie da produzione alimentare tranne i pesci	25 µg/kg 550 µg/kg 50 µg/kg 30 µg/kg 60 µg/kg	Muscolo Grasso Fegato Rene Uova	Non usare in animali che producono latte per il consumo umano. Per i suini l'LMR del grasso si riferisce a «pelle e grasso in proporzioni naturali»
Fluralaner	Fluralaner	Pollame	65 µg/kg 650 µg/kg 650 µg/kg 420 µg/kg 1300 µg/kg	Muscolo Pelle e grasso Fegato Rene Uova	-
Ivermectina	22,23-diidroivermectina B1a	Tutti i mammiferi da produzione alimentare	30 µg/kg 100 µg/kg 100 µg/kg 30 µg/kg	Muscolo Grasso Fegato Rene	Non usare in animali che producono latte per il consumo umano. Per i suini l'LMR del grasso si riferisce a «pelle e grasso in proporzioni naturali»
Doramectina	Doramectina	Bovini, ovini, suini	40 µg/kg 150 µg/kg 100 µg/kg 60 µg/kg	Muscolo Grasso Fegato Rene	Da non utilizzare in animali che producono latte destinato al consumo umano
Eprinomectina	Eprinomectina B1a	Bovini, ovini	50 µg/kg 250 µg/kg 1500 µg/kg 300 µg/kg 20 µg/kg	Muscolo Grasso Fegato Rene Latte	-
Moxidectina	Moxidectina	Bovini Ovini	50 µg/kg 500 µg/kg 100 µg/kg 50 µg/kg	Muscolo Grasso Fegato Rene	-
		Bovini, ovini	40 µg/kg	Latte	

Tabella 8: elenco dei farmaci ectoparassitici per gli animali DPA e relativi limiti massimi dei residui [44 (modificata)]

Tempo di attesa

Stabilire i limiti massimi dei residui è fondamentale per impedire l'immissione sul mercato di alimenti di origine animale che contengano concentrazioni di farmaci pericolose per la salute pubblica. Ma per poter applicare questo concetto nella pratica zootecnica è necessario definire il tempo di attesa, che il Regolamento n. 6/2019 definisce come *“il periodo minimo tra l'ultima somministrazione del medicinale veterinario a un animale e la produzione di alimenti ottenuti da tale animale, che, in condizioni d'impiego normali, è necessario per garantire che tali alimenti non contengano residui in quantità nocive per la salute pubblica”* [48].

Le linee guida redatte dall'EMA, con lo scopo di armonizzare le modalità di calcolo del tempo di attesa tra gli Stati europei, raccomandano, quando possibile, l'adozione di un approccio statistico basato sui principi della farmacocinetica. Questo approccio prevede l'applicazione della regressione lineare ai dati di deplezione del residuo marker, i quali vengono convertiti in scala logaritmica in modo da trasformare la curva a decadimento esponenziale, caratteristica della cinetica di primo ordine, in una retta. Poiché la retta di regressione lineare stima l'andamento della deplezione dei residui nel tempo e non tiene conto delle possibili differenze di velocità di eliminazione tra gli animali, l'EMA prevede l'applicazione di un limite di tolleranza superiore al 95% con un intervallo di confidenza del 95%. In questo modo si garantisce che il 95% degli animali trattati abbia una concentrazione di residui al di sotto del LMR. Quindi il tempo di attesa è pari al giorno (sull'asse delle ascisse) in corrispondenza del quale la linea del limite di tolleranza interseca la retta del LMR. Essendo questo punto di intersezione più a destra rispetto a quello tra la retta di regressione e la retta del LMR, il tempo di attesa è maggiore nel primo caso, garantendo maggiore sicurezza al consumatore [45].

Un esempio di grafico per il calcolo del tempo di attesa è riportato in Figura 17.

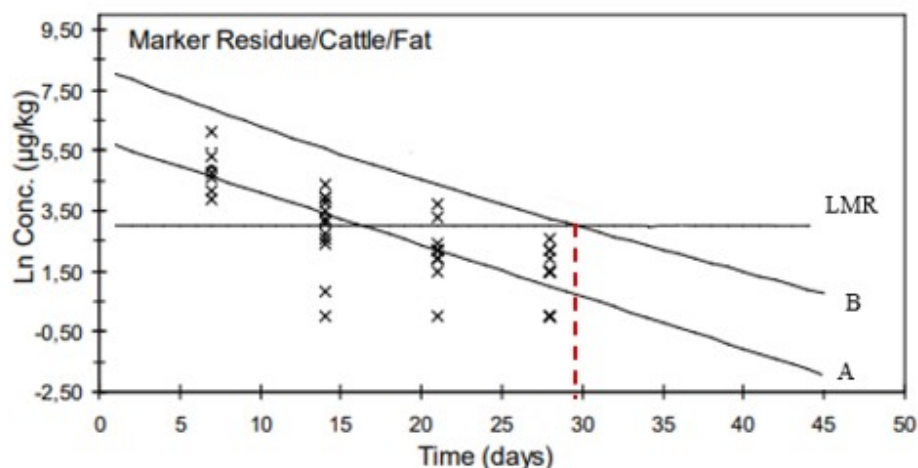


Figura 17: grafico del calcolo del periodo di attesa per il grasso bovino [45]

Sull'asse delle ascisse è riportato in tempo, espresso in giorni, a partire dall'ultimo trattamento somministrato. Sull'asse delle ordinate sono indicate le concentrazioni di residuo marker espresse in scala logaritmica. Ogni $\times$ rappresenta il bovino sottoposto allo studio di deplezione, per il quale è stata fissata la concentrazione del residuo rilevato nel campione di grasso, nel giorno il cui è stato macellato. La linea A rappresenta la retta di regressione che, sulla base dei parametri, predice l'andamento delle concentrazioni nel tempo. La linea B corrisponde al limite di tolleranza al 95%. La retta orizzontale rappresenta il limite massimo di residuo convertito in logaritmo. L'intersezione tra linea B e la retta LMR sull'asse delle ascisse, ricade in corrispondenza del giorno 30, quindi il tempo di attesa è 30 giorni.

Sebbene l'analisi di regressione lineare appena descritta sia l'approccio migliore per il calcolo del tempo di attesa secondo l'EMA, questo non è sempre adottabile. In particolare, quando la retta di regressione lineare subisce deviazioni significative o se lo strumento analitico utilizzato per quantificare il residuo non riesce a misurare minime concentrazioni di residuo con sufficiente accuratezza e precisione. Per questi casi, l'EMA ha previsto approcci alternativi. Uno di questi è assegnare un tempo di attesa pari al giorno in cui le concentrazioni di residuo in tutti i tessuti di ciascun animale trattato scende al di sotto del LMR. Anche in questo caso, per compensare le incertezze biologiche, si aggiunge un intervallo di sicurezza che può essere (1) compreso tra il 10% e il 30% dei giorni calcolati oppure (2) può essere di 1-3 volte il valore dell'emivita di eliminazione terminale del farmaco in quel tessuto. Il tempo di attesa viene calcolato per ogni tessuto dell'animale, ma il tempo ufficiale assegnato al medicinale coincide

con quello più alto ottenuto, in questo modo viene protetta la salute del consumatore indipendentemente dal tessuto che consumerà [45].

Per i medicinali somministrati intramuscolo o nel sottocute il tempo di attesa può essere calcolato considerando 3 aspetti: il LMR, il valore di riferimento per i residui nel sito di inoculo (ISRRV) e la DGA.

Secondo il calcolo basato sul LMR, per le sostanze somministrate per via intramuscolo o per via sottocutanea si utilizza, come riferimento, il LMR rispettivamente del muscolo o del grasso, assicurandosi che il tempo di attesa garantisca, nel sito di inoculo, una concentrazione del residuo marker inferiore al LMR fissato per il muscolo o per il grasso.

L'approccio basato sull'ISRRV si utilizza per quelle sostanze la cui eliminazione dal sito di iniezione è così lenta, da richiedere periodi di sospensione talmente lunghi da risultare proibitivi. Pertanto, l'EMA fissa un valore di riferimento specifico per il sito di inoculo ad un livello tale da garantire che, in seguito al consumo del paniere alimentare standard contenente il tessuto sede dell'iniezione, i residui totali restino al di sotto della dose giornaliera ammissibile.

L'ultima modalità di calcolo del tempo di attesa, che sfrutta la DGA, si applica alle sostanze che non richiedono il LMR. Con questo metodo si calcola il carico totale dei residui all'interno del paniere alimentare standard, sostituendo il valore del residuo nel muscolo o nel grasso (a seconda che la somministrazione sia intramuscolare o sottocutanea) con quello riscontrato nel tessuto sito di inoculo. Il tempo di attesa corrisponde, quindi, al giorno in cui la concentrazione di residui totali assunti tramite la dieta è al di sotto della DGA [46].

Il tempo di attesa per i residui contenuti nel latte si ottiene tramite il metodo TTSC (*Time to Safe Concentration*). Il metodo si basa sull'analisi della curva di deplezione di ogni animale, nella quale è riportato l'andamento dei residui ad ogni mungitura; per ogni soggetto si identifica il momento esatto, espresso in numero di mungiture, in cui la concentrazione di residui è inferiore al LMR. I singoli tempi ottenuti si convertono in scala logaritmica e di questi si calcolano la media e la deviazione standard, necessari per ottenere il limite di tolleranza superiore al 95% con livello di confidenza del 95%. Il valore emerso viene riconvertito a numero di mungiture e arrotondato per eccesso. Infine, considerando un intervallo di 12 ore tra le mungiture nella comune pratica zootecnica, il risultato finale viene convertito in ore che corrispondono al tempo di attesa vero e proprio [47].

Il calcolo del tempo di attesa per le uova, al contrario del latte, per il quale l'EMA ha sviluppato linee guida apposite, si rifà alle metodologie usate per i tessuti.

Essendo il tempo di attesa di fondamentale importanza nell'attività pratica degli allevatori, il Regolamento (UE) n. 6/2019 stabilisce l'obbligo di riportare tale dato, anche se ha un valore pari a zero, sul confezionamento primario, sul confezionamento secondario e nel foglietto illustrativo del medicinale veterinario. Questa informazione deve essere fornita anche dal riassunto delle caratteristiche tecniche del prodotto, consultabile dalla Banca dati dei medicinali veterinari dell'Unione europea, e dalle prescrizioni mediche redatte dai veterinari. Infatti, il tempo di attesa è stabilito per ogni prodotto commerciale, dato che a parità di principio attivo e via di somministrazione, può subire variazioni dovute alle differenze di formulazione [48]. La presenza di numerosi promotori di permeazione in Eprizero® velocizza l'assorbimento di eprinomectina, facendo raggiungere la concentrazione plasmatica massima in minor tempo rispetto a quanto avviene con Elivec®; di conseguenza la deplezione del medicinale è più rapida e il tempo di attesa è inferiore. Un esempio è riportato in Tabella 9.

<i>Nome commerciale</i>	ELIVEC®	EPRIZERO®
<i>Principio attivo</i>	Eprinomectina 5 mg/ml	Eprinomectina 5 mg/ml
<i>Eccipienti</i>	BHT, alfa tocoferolo, glicole propilenico dicaprilato	BHT, isopropil miristato, cetearil etilesanoato, isopropil miristato, glicole propilenico dicaprilato, denatonio benzoato, alcol isopropilico
<i>Via di somministrazione</i>	Topica (pour-on)	Topica (pour-on)
<i>Specie</i>	Bovini (ovini, caprini)	Bovini
<i>Tempo di attesa (carne)</i>	15 giorni	10 giorni
<i>Tempo di attesa (latte)</i>	0 giorni	0 giorni

Tabella 9: confronto dei tempi di attesa di due prodotti commerciali [13]

Qualora ci sia necessità di ricorrere all'uso in deroga per mancanza di un medicinale autorizzato nella specie animale in questione, per la quale, quindi, non è stato calcolato il tempo di attesa per tale farmaco, il veterinario deve modificare il tempo di attesa a scopo preventivo, come riportato in Tabella 10. Se il medicinale è usato per una indicazione diversa da quella stabilita in sede di autorizzazione all'immissione in commercio (AIC) ma la specie di destinazione è la stessa, il tempo di attesa resta invariato [48].

Categoria alimentare	Condizioni di utilizzo	Tempo di attesa minimo
Carni e frattaglie <i>di mammiferi DPA, pollame e selvaggina di penna di allevamento</i>	Medicinale autorizzato per gli animali destinati alla produzione di alimenti	Il tempo di attesa più lungo previsto nel riassunto delle caratteristiche del prodotto per carni e frattaglie, moltiplicato per il fattore 1,5.
	Medicinale non autorizzato per gli animali destinati alla produzione di alimenti	28 giorni
	Medicinale con tempo di attesa pari a zero , ma impiegato in una famiglia tassonomica diversa rispetto alle specie di destinazione autorizzate	1 giorno
Latte <i>proveniente da animali che producono latte per il consumo umano</i>	Medicinale autorizzato per gli animali che producono latte per il consumo umano	Il tempo di attesa più lungo per il latte tra quelli previsti nel riassunto delle caratteristiche del prodotto per ogni specie animale, moltiplicato per il fattore 1,5.
	Medicinale non autorizzato per gli animali che producono latte per il consumo umano	7 giorni
	Medicinale con tempo di attesa pari a zero	1 giorno
Uova <i>di animali che producono uova per il consumo umano</i>	Medicinale autorizzato per gli animali che producono uova per il consumo umano	Il tempo di attesa più lungo per le uova tra quelli previsti nel riassunto delle caratteristiche del prodotto per ogni specie animale, moltiplicato per il fattore 1,5.
	Medicinale non autorizzato per gli animali che producono uova per il consumo umano	10 giorni

Tabella 10: Tempo di attesa per i medicinali utilizzati in condizioni non previste dai termini dell'AIC nelle specie animali DPA [48]

La distinzione della specie animale destinataria del medicinale veterinario è resa più immediata dalla presenza di un pittogramma, riportati in Tabella 11, sull'etichetta del confezionamento primario o sul confezionamento secondario. Il Regolamento di esecuzione (UE) n. 875/2024 che ne dispone l'uso, indica la possibilità di usare i pittogrammi in sostituzione del testo corrispondente relativo alla specie di destinazione. Vista la recente entrata in vigore del regolamento, è previsto un periodo di transizione durante il quale potranno essere ancora usati pittogrammi non conformi [49].

 Bovini	 Ovini	 Suini	 Polli
 Cavalli	 Caprini	 Pesci	 Anatre
 Tacchini	 Oche	 Piccioni	 Fagiani
 Cani	 Gatti	 Conigli	 Porcellini d'India
 Pappagalli	 Serpenti	 Uccelli ornamentali	 Api
 Cammelli	 Volpi	 Elefanti	

Tabella 11: pittogrammi [49]

La tutela della salute del consumatore è affidata non soltanto alla responsabilità del veterinario e dell'allevatore, ma anche a rigide norme europee che disciplinano i controlli dei residui di sostanze farmacologicamente attive nei prodotti di origine animale. Nello specifico, il Regolamento delegato (UE) n. 1644/2022 definisce le classi di sostanze da monitorare, distinguendo i principi attivi vietati dai farmaci regolarmente autorizzati, nei quali sono inclusi gli antiparassitari e il Regolamento di esecuzione (UE) n. 1646/2022 uniforma le modalità di

esecuzione dei controlli relative alle sostanze. La ricerca dei principi attivi avviene secondo un piano nazionale di controllo basato sul rischio, cioè dispone l'esecuzione di campionamenti di tessuti o prodotti animali che hanno maggior probabilità di essere contaminati tenendo in considerazione la stagionalità dei trattamenti, proprio come nel caso degli antiparassitari, la tipologia di allevamento ed eventuali non conformità pregresse da parte dell'allevamento. A scopo di rilevare molecole non incluse nei controlli basati sul rischio o in generale, per intercettare eventuali irregolarità, è previsto anche un piano di sorveglianza randomizzato che utilizza tecniche analitiche ad ampio spettro capaci di quantificare i residui anche quando sono inferiori ai LMR. I risultati ottenuti devono essere inviati all'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA). Infine, sono predisposti anche controlli frontaliери per i prodotti di origine animale di provenienza extra-UE, per verificare che rispettino i criteri di sicurezza europei [50, 51].

L'importanza dei piani di controllo e di sorveglianza dei residui dei medicinali veterinari è dimostrata dallo studio condotto da Iannetti et al., nel quale è stato valutato il rischio derivante dall'esposizione dei cittadini italiani a uova contaminate da fipronil. Questa analisi è stata avviata in seguito alla crisi sanitaria europea del 2017, causata dalla diffusione di uova provenienti da allevamenti avicoli olandesi nei quali, nonostante il divieto d'uso sugli animali DPA a causa della tossicità moderata nei riguardi dell'uomo, il principio attivo era stato applicato illegalmente nell'ambiente per il controllo l'acaro rosso *Dermanyssus gallinae*. A seguito dell'allerta, il Ministero della Salute italiano ha avviato una indagine straordinaria per verificare l'eventuale uso illecito della molecola anche nei nostri allevamenti di galline ovaiole. Gli autori dello studio hanno adottato i valori tossicologici di riferimento, relativi al fipronil, stabiliti dall'EFSA, che fissa la dose di riferimento acuta a 0,009 mg/kg e la DGA a 0,0002 mg/kg. È stato considerato come limite di quantificazione analitica la dose di 0,005 mg/kg di fipronil. Dei 577 allevamenti presi in esame, il 4% è risultato positivo al fipronil e i valori medi di farmaco nelle uova contaminate sono stati di 0,42 mg/kg. Per stimare l'esposizione reale del consumatore la quantità di uova che consumano gli italiani, si è ricorso al database nazionale dei consumi alimentari e la popolazione è stata suddivisa in gruppi in base alle fasce d'età. I risultati evidenziano che la probabilità di superare la dose di riferimento acuta è risultata pressoché nulla per la popolazione adulta; tuttavia, è emersa una maggiore suscettibilità minima (pari allo 0,07%), nella fascia d'età pediatrica a causa del ridotto peso corporeo in rapporto alle porzioni di alimento ingerite [52].

Il fatto che la presenza di fipronil nelle uova non abbia causato rischi sanitari è stato merito dei controlli preventivi che hanno evitato il protrarsi dell'utilizzo del fipronil e la possibilità di realizzazione di esiti peggiori.

5. ECTOPARASSITICIDI E IMPATTO AMBIENTALE

La contaminazione da parte degli ectoparassitici non riguarda soltanto gli alimenti di origine animale, ma interessa, inevitabilmente, anche l'ambiente e le sue forme di vita; infatti, non sono selettivi solo sugli artropodi che infestano gli animali, ma colpiscono anche gli insetti utili e innocui, la fauna selvatica e gli organismi acquatici e terrestri.

Per comprendere le modalità di contaminazione e le strategie di mitigazione, in questo capitolo saranno analizzate le vie di rilascio ambientale e la normativa di riferimento, distinguendo l'impatto ambientale derivante dall'allevamento di animali DPA da quello associato alla gestione degli animali NDPA.

5.1 ANIMALI DPA

La principale via di esposizione dell'ambiente agli ectoparassitici impiegati negli animali DPA avviene tramite le feci e le urine, nelle quali sono eliminati i principi attivi ad effetto sistemico, capaci di contaminare il terreno e le acque. Inoltre, i prodotti ad applicazione cutanea possono disperdersi nell'ambiente in seguito al dilavamento della pelle o a seconda delle modalità di somministrazione [53].

Il regolamento (UE) n. 6/2019 impone come requisito necessario all'ottenimento dell'AIC, la valutazione del rischio ambientale (ERA) per tutti i medicinali veterinari e l'individuazione di eventuali misure preventive utili a ridurre tale rischio [48]. L'ERA prende in considerazione solamente l'esposizione che deriva dall'uso del prodotto escludendo il rischio ambientale associato alle fasi di produzione e di smaltimento del medicinale.

La valutazione si sviluppa in due fasi, le cui procedure pratiche sono standardizzate dalle linee guida del VICH [53].

FASE I

Durante la fase I, obbligatoria per tutti i medicinali veterinari, si quantifica l'eventuale esposizione dell'ambiente al prodotto attraverso un albero decisionale strutturato in 19 domande riguardanti il metodo di somministrazione, le specie target e la formulazione [54].

Per quanto riguarda gli ectoparassitici, questi seguono due percorsi valutativi differenti a seconda delle modalità di allevamento poiché queste influenzano l'esposizione ambientale ai medicinali. Uno schema rappresentativo è riportato in Figura 18 [53].

Gli animali allevati al pascolo rilasciano gli escrementi direttamente nell'ambiente, ma in modo più casuale e localizzato per cui anche il farmaco si distribuisce meno nel terreno; tuttavia, è l'attività del farmaco stesso a determinare il rischio ambientale che può essere più acuto rispetto all'altra forma di allevamento. Quindi considerato l'effetto *off-target* intrinseco dell'antiparassitario si procede direttamente alla valutazione del rischio di fase II [53].

Per gli animali allevati al chiuso, come ad esempio polli o maiali da ingrasso, considerati allevamento intensivo, le deiezioni contaminate dal farmaco sono prima stoccate sottoforma di letame o liquame, e solo successivamente sono sparsi sui terreni. Questo può permettere da una parte un eventuale degradazione del farmaco e, quindi, una riduzione dell'ecotossicità, ma al contempo lo spargimento diffuso di grandissime quantità di deiezioni ha un elevato impatto sull'ambiente.

Per gli animali allevati in modo intensivo occorre calcolare la PEC (*Predicted Environmental Concentration*) relativa al terreno (PEC_{terreno}) cioè la concentrazione di farmaco che si stima contaminerà i primi 5 centimetri di profondità di un terreno di un ettaro. Tale valore dipende dalla quantità di letame o liquame, contaminato dal farmaco, sparso sul terreno, che viene calcolato rapportando la quota massima di azoto (all'interno delle feci animali), che secondo le leggi europee, può essere dispersa in un ettaro di terreno ogni anno tramite il letame, e la quantità di azoto prodotta dalla specie animale all'anno.

La quantità di farmaco rilasciata si ottiene dalla dose giornaliera, dai giorni di somministrazione e dal peso vivo dell'animale e si basa sul concetto del residuo totale, cioè si ipotizza che venga rilasciato il 100% di farmaco nell'ambiente. Questa considerazione è applicata anche ai prodotti ad applicazione cutanea come *pour-on*, soluzioni per immersione perché possono contaminare il letame o le acque usate per i lavaggi delle stalle o della sale di mungitura e di conseguenza inquinare ugualmente il suolo e le acque.

Se il valore della PEC_{terreno} ottenuto è inferiore a 100 $\mu\text{g/kg}$, cioè la concentrazione di farmaci veterinari inferiore a quella che ha dimostrato avere effetti tossici verso lombrichi, microbi e piante, non occorre procedere oltre con la valutazione del rischio ambientale del medicinale perché non rappresenta un pericolo per l'ambiente. Se il medicinale ha un valore di PEC_{terreno} maggiore di 100 $\mu\text{g/kg}$ si procede a determinare se durante il periodo di stoccaggio del letame, fissato a minimo 30 giorni, il farmaco subisce degradazione in misura sufficiente a ridurre la

PEC. Se ciò non si verifica, è necessario sottoporre il medicinale veterinario alla fase II della valutazione [53, 54].

Per gli ectoparassitici somministrati agli animali DPA allevati a stabulazione mista, siccome trascorrono una parte dell'anno al chiuso ma la restante parte al pascolo, è indispensabile determinare il rischio di fase II [53].

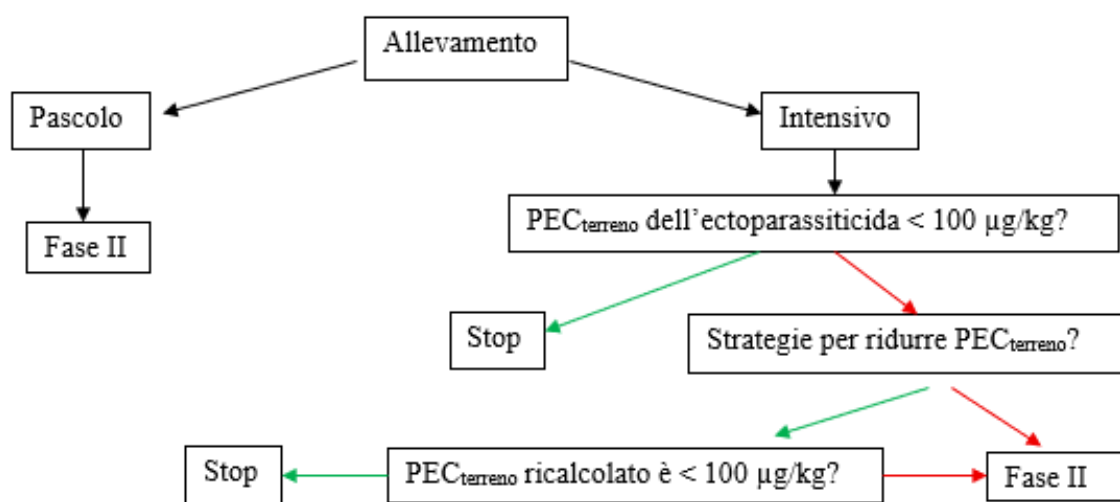


Figura 18: percorsi valutativi relativi agli ectoparassitici, sulla base delle modalità d'allevamento, durante la fase I dell'ERA [54]

FASE II

Durante la fase II si sottopone l'ectoparassitico a una valutazione ecotossicologica, basata su 2 livelli di rischio (A e B), durante la quale si definisce il quoziente di rischio (QR), che indica con quale probabilità il medicinale può provocare effetti avversi all'ambiente. È ottenuto dal rapporto tra PEC, cioè la concentrazione stimata di farmaco specifica per ogni comparto ambientale e PNEC (*predicted no-effect concentration*), cioè la massima concentrazione di farmaco al di sotto della quale non si manifesta ecotossicità nella specie o microrganismo che vive nel rispettivo comparto.

Le indagini di livello A sono finalizzate al calcolo della PEC per i comparti terreno, acqua e sterco, e al calcolo della PNEC. Se il QR è inferiore a 1, l'ERA si conclude perché il medicinale ha dimostrato di non avere elevata ecotossicità, altrimenti si prosegue al livello B.

Nel livello B si approfondiscono gli studi riguardanti gli effetti sull'ambiente terrestre e acquatico valutando gli effetti tossici a lungo termine, il bioaccumulo del farmaco nelle specie

non bersaglio e la conseguente biomagnificazione, cioè l'accumulo della sostanza tossica lungo la catena alimentare [53].

Durante i test del livello A della fase II dell'ERA dei medicinali destinati alla somministrazione negli animali DPA al pascolo vengono analizzate le proprietà chimico-fisiche del principio attivo, il destino ambientale e gli effetti provocati dalla sostanza sull'ambiente terrestre e acquatico; le metodologie da utilizzare sono stabilite nelle linee guida sviluppate dall'Organizzazione per la cooperazione e lo sviluppo economico (OCSE) che armonizzano tali procedure negli Stati membri.

Le proprietà chimico fisiche prese in considerazione sono la solubilità in acqua, la costante di dissociazione in acqua, lo spettro di assorbanza dell'UV-visibile, il punto di fusione, la pressione di vapore e il coefficiente di ripartizione olio-acqua. Gli studi riguardanti il destino ambientale dell'antiparassitario valutano il suo assorbimento e degradazione nel suolo e a titolo opzionale anche la fotolisi e l'idrolisi.

Durante la valutazione degli effetti sui tre comparti ambientali, cioè il comparto acquatico, il comparto terrestre e il comparto sterco, viene stimata la PNEC per ogni livello tassonomico sottoposto al test, come riportato in Tabella 12. Il valore della PNEC è ottenuto dividendo il valore tossicologico ottenuto per un fattore di incertezza (FI). Gli studi sugli effetti acquatici potenzialmente prodotti dagli ectoparassiticiidi vengono eseguiti, su almeno una specie di alga, un invertebrato acquatico e una specie di pesce che vivono nelle acque dolci, per i quali si calcola la concentrazione che provoca un effetto biologico pari al 50% dell'effetto massimo (EC50) o la concentrazione che provoca la morte del 50% degli individui (LC50) [53, 56]. Siccome gli ectoparassiticiidi non sono considerati tossici per i microrganismi terrestri e le piante, gli studi su questi due livelli tassonomici non sono previsti, a meno che non siano emersi valori allarmanti durante la fase I. Per cui, lo studio degli effetti sul comparto terrestre valuta solamente la concentrazione di farmaco che non provoca effetti subacuti e non altera la riproduzione (NOEC) dei lombrichi. Dato che gli animali allevati al pascolo possono eliminare l'antiparassitario nello sterco direttamente in campo, le linee guida prevedono anche di valutare la EC50 di farmaco relativa alle larve di mosche e di scarabei stercorari [55].

Studio effetti acquatici	Valore tossicologico ottenuto	FI
Inibizione della crescita delle alghe	EC50	100
Immobilizzazione della Daphnia	EC50	1000
Tossicità acuta nei pesci	LC50	1000
Studio effetti terrestri	Valore tossicologico ottenuto	FI
Effetti subacuti o riproduttivi nei lombrichi	NOEC	10
Studio effetti nello sterco	Valore tossicologico ottenuto	FI
Larve di mosca stercoraria	EC50	100
Larve di scarabeo stercorario	EC50	100

Tabella 12: studi degli effetti nei diversi comparti [55 (modificato)]

In alcuni Paesi extra europei è opportuno valutare anche il rischio di esposizione all'ectoparassitico da parte di piccoli mammiferi o uccelli che si cibano di insetti dal dorso di animali potenzialmente trattati con i pour-on; in Europa questo scenario è considerato di minor interesse [53].

Dopo aver ottenuto la PNEC per ogni specie oggetto di studio, al fine di calcolare il quoziente di rischio, è necessaria la PEC che è specifica per ogni comparto ambientale. A differenza degli animali allevati intensivamente, per quelli al pascolo la PEC_{terreno} non è stata calcolata durante la fase I. In modo analogo a quanto fatto per la prima tipologia di allevamento, si ottiene la concentrazione di farmaco che si stima contaminerà, attraverso le feci, i primi 5 centimetri di profondità di un terreno di 1 ettaro; in questo caso dipende dal numero di animali per ettaro di pascolo e dal loro peso corporeo.

La PEC relativa all'acqua va calcolata sia per quella sotterranea, cioè le falde acquifere, sia per quella superficiale, perché possono essere contaminate entrambe attraverso deflusso o percolamento nel terreno. La PEC dell'acqua sotterranea dipende dalle proprietà chimico-fisiche del principio attivo, dalla quantità di pioggia e di materiale organico presente nel suolo e dalle interazioni che si instaurano tra il suolo e l'acqua stessa. Il valore ottenuto, perché sia accettabile, deve essere inferiore a $0,1 \mu\text{g/L}$ cioè il limite soglia fissato dalla direttiva europea sulle acque potabili. La PEC dell'acqua superficiale si ottiene assumendo che l'acqua contaminata che defluisce in uno specchio d'acqua superficiale, che in prossimità di un pascolo può essere un fossato, un torrente o uno stagno, subisca diluizione e quindi la concentrazione dell'ectoparassita si riduce a un terzo del valore originale [53, 55].

La contaminazione delle acque può dipendere anche dalle modalità di somministrazione degli ectoparassitici sulla cute. Infatti, le linee guida VICH raccomandano di valutare l'esposizione diretta delle acque superficiali agli animali trattati con ectoparassitici ad alto volume, cioè quelli a cui il medicinale è stato applicato per immersione o spruzzatura. Questi trattamenti richiedono un certo periodo di tempo affinché il liquido asciughi, diffonda sulla cute e quello in eccesso drena. Ma se questo tempo non venisse rispettato e l'animale entrasse in un ruscello o in uno stagno troppo presto, questi potrebbero contaminarsi per contatto delle zampe ed eventualmente del ventre con l'acqua. Inoltre, viene specificato che questo tipo di esposizione del comparto acquatico agli ectoparassitici non riguarda i pour-on, a causa dei bassi volumi usati e dell'area del corpo su cui vengono applicati. L'inquinamento di ruscelli e stagni è preso in considerazione anche per gli ectoparassitici somministrati per via orale e iniettiva perché le feci contaminate da questi farmaci potrebbero essere rilasciate dagli animali proprio mentre si trovano in acqua [53].

La PEC per gli ectoparassitici relativa allo sterco è essenziale per gli animali al pascolo dato che i lattoni macrociclici vengono escreti nelle feci in forma imm modificata. Idealmente, la concentrazione massima di farmaco nello sterco dovrebbe essere determinata attraverso studi farmacocinetici, ma nel caso in cui non siano disponibili si può prendere in considerazione la dose giornaliera del principio attivo, il peso corporeo dell'animale, la frazione più alta della dose escreta nelle feci in un giorno e la massa di letame escreta in un giorno [53].

Una volta calcolata la PEC per i comparti terreno, acqua e sterco e le PNEC di ogni livello tassonomico o specie, bisogna calcolare il quoziente di rischio (QR) per ognuno, come indicato in Tabella 13 [55].

Comparto terreno	
QR lombrichi	$\frac{PEC_{\text{terreno}}}{PNEC_{\text{lombrichi}}}$
Comparto acqua	
QR alghe	$\frac{PEC_{\text{acqua superficiale}}}{PNEC_{\text{alghe}}}$
QR Daphnia	$\frac{PEC_{\text{acqua superficiale}}}{PNEC_{\text{Daphnia}}}$
QR pesci	$\frac{PEC_{\text{acqua superficiale}}}{PNEC_{\text{pesci}}}$
Comparto sterco	
QR mosca stercoraria	$\frac{PEC_{\text{sterco}}}{PNEC_{\text{mosca stercoraria}}}$
QR scarabeo stercorario	$\frac{PEC_{\text{sterco}}}{PNEC_{\text{scarabeo stercorario}}}$

Tabella 13: calcolo del quoziente di rischio [55]

Se ogni QR è inferiore a 1 la valutazione del rischio ambientale si interrompe, se anche un solo QR è superiore a 1 si affina la PEC del relativo comparto dato che in questa primo stadio si usa l'approccio del residuo totale cioè quello delle peggiori condizioni possibili, a titolo precauzionale, mentre nella realtà, la concentrazione di farmaco che contamina realmente un comparto potrebbe essere inferiore [55].

La PEC relativa al terreno può essere affinata prendendo in considerazione la riduzione della quantità di farmaco in seguito al metabolismo, alla degradazione nel letame e alla degradazione nel suolo [53].

Per rivalutare la PEC dell'acqua si usano modelli e software sfruttati in tutta l'Unione europea per valutare l'esposizione ai prodotti fitosanitari [53].

Per l'affinamento della PEC relativa allo sterco si effettuano studi di escrezione per misurare le variazioni di concentrazione dell'ectoparassitico nel periodo post-trattamento e si quantifica la degradazione che il farmaco subisce nello sterco sul campo [56].

A questo punto si ripetono i calcoli del QR adoperando la PEC affinata. Se tutti i quozienti di rischio sono inferiori a 1, la valutazione finisce; in caso contrario prosegue con il livello B [53].

I test del livello B della fase II dell'ERA sono necessari solo per i livelli tassonomici il cui QR è maggiore di 1 e hanno lo scopo di affinare il valore della PNEC. Gli studi sugli effetti nel comparto acquatico vengono eseguiti sulle stesse specie per le quali si ricerca la NOEC. È

possibile considerare anche il QR relativo ai sedimenti, perché gli ectoparassitici più lipofili all'interno dell'acque superficiali tendono a sedimentare sul fondo [53]. Per quanto riguarda gli effetti sul terreno, si testano in laboratorio le conseguenze del farmaco su più specie di invertebrati oppure su tutte le specie presenti in un campione di suolo o si conducono gli studi direttamente in campo [53, 55].

La determinazione della PEC affinata relativa agli insetti coprofagi si basa solo su alcuni metodi di studio riportati in diverse pubblicazioni scientifiche a causa dell'impossibilità nel definire metodologie di analisi armonizzate [56].

Per gli ectoparassitici con una elevata lipofilia, come per i piretroidi, occorre verificare se sono potenzialmente bioaccumulabili, cioè capaci di concentrarsi nel tessuto adiposo dei pesci e nei lombrichi. A tal fine si calcola il fattore di bioconcentrazione (BCF), che esprime la quantità di farmaco che può essere assorbita dai due animali tramite, rispettivamente, l'acqua e il terreno. Se il valore ottenuto è inferiore a 1000 la valutazione del rischio ambientale termina; altrimenti, è necessario stabilire il rischio di avvelenamento secondario, cioè la possibilità che uccelli o mammiferi contengano concentrazioni tossiche di farmaco in seguito al consumo di prede contaminate da tale sostanza [53].

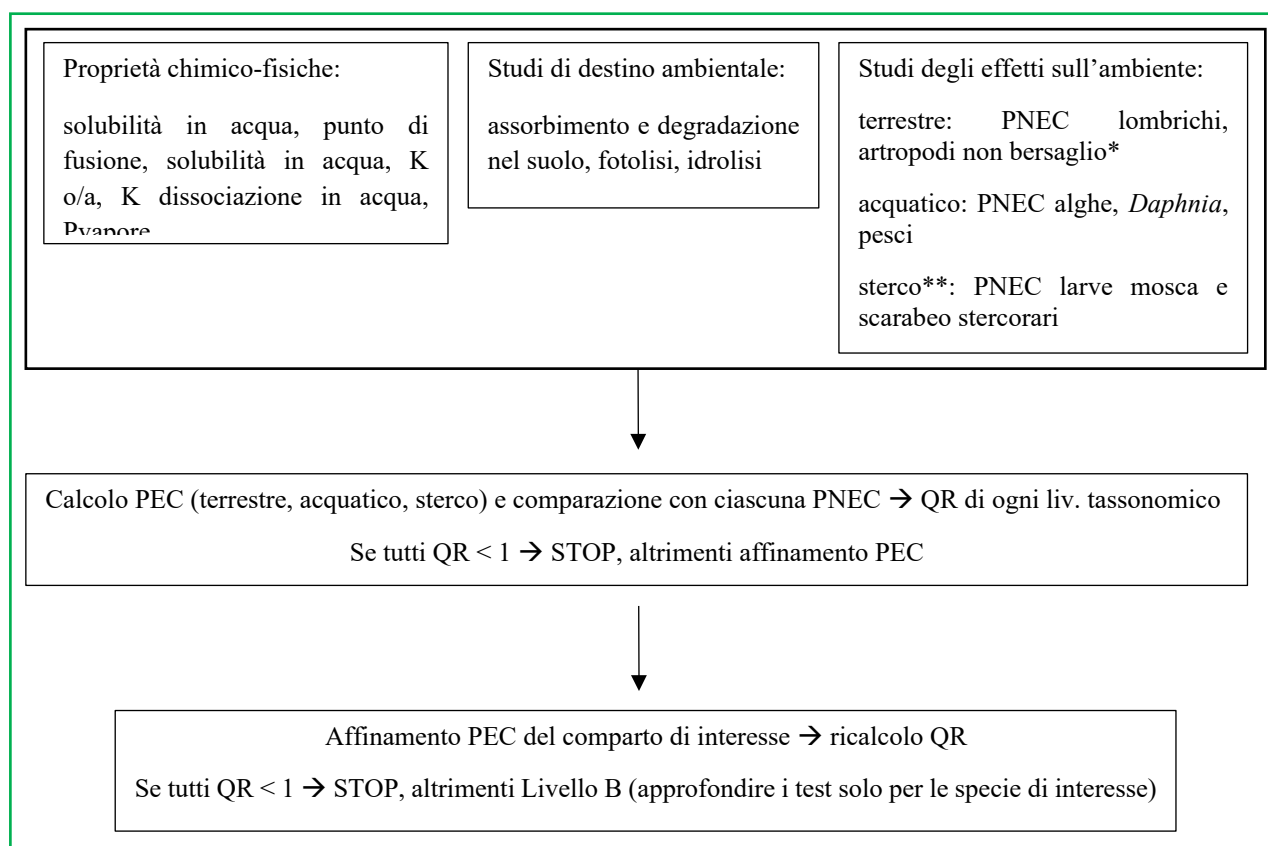
La valutazione del rischio di fase II per gli ectoparassitici destinati all'uso in animali allevati in modo intensivo richiede gli stessi passaggi e calcoli eseguiti per gli antiparassitari per gli animali al pascolo, con alcune eccezioni.

Negli studi di livello A, in particolare gli studi degli effetti del farmaco sul comparto terrestre, può essere richiesta anche la stima della PNEC relativa agli artropodi non bersaglio; a questo scopo vengono presi come modello quelli appartenenti all'ordine dei collemboli. Il fatto che non sia necessaria per gli animali allevati al pascolo potrebbe essere spiegato dalle modalità con cui il terreno viene contaminato dall'antiparassitario. Infatti, per gli artropodi che risiedono nel terreno è inevitabile entrare in contatto con il letame e il liquame contaminati dall'antiparassitario, dato che sono sparsi su tutta la superficie del terreno, mentre la defecazione localizzata degli animali al pascolo assicura agli artropodi la presenza di porzioni di terreno incontaminate.

Sempre a causa delle diverse modalità di contaminazione del suolo tramite le feci, durante gli studi degli effetti sul terreno, non è richiesta la determinazione della PNEC per gli insetti coprofagi [53].

La fase II dell'ERA è rappresentata schematicamente in Figura 19.

Livello A



*→ solo per allevamenti intensivi

**→ solo per animali al pascolo

Livello B

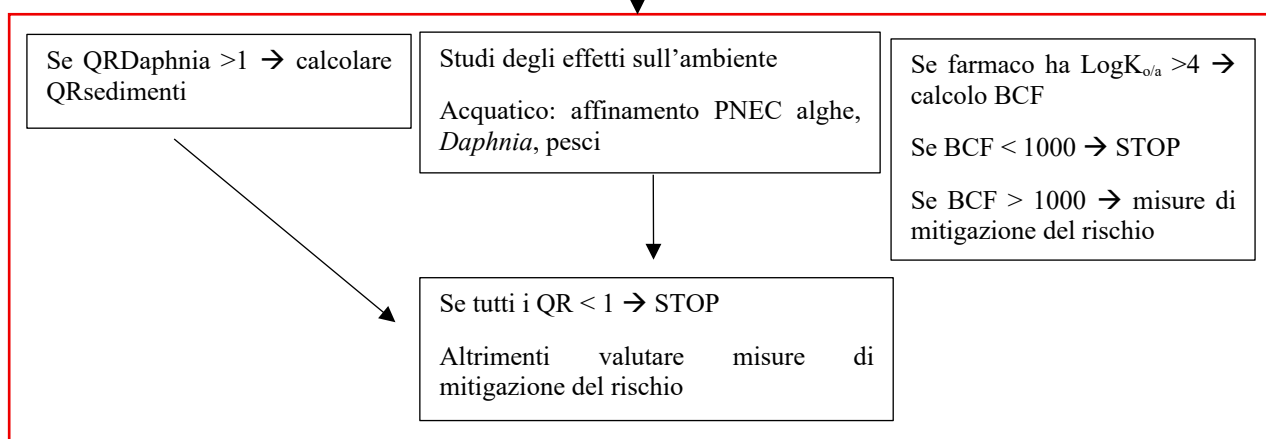


Figura 19: fase II dell'ERA [56 (modificato)]

Se anche al termine dei test di livello B il rischio rimane elevato, il richiedente dell'AIC dell'ectoparassitocida deve proporre misure di mitigazione del rischio per ridurre l'ecotossicità a livelli accettabili o eventualmente eliminarla completamente. Nel caso in cui anche le misure di mitigazione del rischio dovessero essere insufficienti, l'AIC viene concesso solo se il beneficio derivante dall'uso del farmaco resta superiore ai rischi [53]. Questo è ciò che accade, in realtà, con molti ectoparassitocidi, perché sebbene provochino elevati effetti tossici verso più comparti ambientali, sono indispensabili per prevenire e trattare le infestazioni parassitarie negli animali e salvaguardare la loro salute e quella umana.

Ad esempio, i piretroidi subiscono fotolisi e ossidazione per esposizione all'aria con una velocità elevate, soprattutto per le generazioni meno recenti. Sono facilmente trattenute nel suolo dove vengono degradate in breve tempo da alcuni microrganismi; perciò, non percolano nelle falde acquifere, non sono volatili e non vengono assorbiti dalle piante. Tuttavia, non devono essere rilasciate in acqua perché risultano tossiche per i pesci [57].

Il fluralaner ha una bassissima solubilità in acqua, nella quale persiste fino a 196 giorni, per cui è ritenuta altamente tossica per gli invertebrati acquatici [11].

I lattoni macrociclici sono eliminati, in forma immodificata, con le feci, nelle quali possono restare attivi anche per 2 mesi, provocando effetti tossici per gli scarabei stercorari, quali riduzione dell'ovodeposizione e minore sopravvivenza delle forme immature. Recentemente, hanno dimostrato tossicità anche nei confronti di alcune specie di lombrichi, che si è manifestata come assottigliamento, scolorimento e frammentazione del corpo. Sebbene in passato i lattoni macrociclici fossero considerati privi di effetti fitotossici, negli ultimi anni sono state fatte alcune scoperte che smentiscono questa tesi. La moxidectina contenuta nelle feci ovine ha ridotto in modo significativo la germinazione delle specie *Plantago lanceolata*, *Galium verum* e *Centaurea acea*, mentre l'ivermectina ha causato una minore crescita delle radici di *Sinapis alba*, nonostante non fosse in prossimità della pianta [58].

Seppur possa sembrare che venga anteposta la salute animale e umana su quella ambientale, quest'ultima viene preservata il più possibile proprio grazie all'adozione di misure di mitigazione del rischio, che possono includere periodi di tempo nei quali deve essere impedito all'animale l'accesso a corpi d'acqua superficiali o il divieto di somministrare ripetutamente l'antiparassitario mantenendo gli animali sempre sullo stesso pascolo. Queste precauzioni d'utilizzo devono essere riportate sul foglietto illustrativo del medicinale veterinario e nel

riassunto delle caratteristiche del prodotto. A volte può essere anche sufficiente eliminare, in sede di richiesta di AIC, una indicazione di trattamento o una specie animale di destinazione per ridurre il rischio [48, 53].

Inoltre, il regolamento UE n. 6/2019 suggerisce di considerare il raggiungimento di concentrazioni tossiche di medicinale veterinario nel terreno o nell'acqua potabile come incidente ambientale e segnalarlo come sospetto evento avverso [48].

La riduzione dell'ecotossicità passa anche per una corretta gestione della somministrazione del medicinale veterinario, specialmente se è associata ad elevati rischi ambientali. Ad esempio, la somministrazione di ectoparassitici per via orale attraverso l'acqua di abbeveraggio o il mangime può esporre l'ambiente a contaminazioni maggiori di quelle che si verificherebbero tramite geli, paste o soluzioni orali somministrate tramite *drenching*. A scopo di limitare l'esposizione ambientale dovuta all'impiego di queste modalità di somministrazione orale, il Regolamento delegato (UE) n.1159/2024 stabilisce le procedure pratiche e gli obblighi per l'allevatore e il veterinario. Ad esempio, il veterinario prescrive gli antiparassitari miscelati al mangime o applicati sulla sua superficie solo se usati per trattare un piccolo numero di animali o animali nutriti singolarmente; inoltre, deve fornire all'allevatore istruzioni per smaltire in sicurezza i medicinali non usati. L'allevatore deve diluire omogeneamente il medicinale nel mangime o nell'acqua, senza contaminare quelli destinati ad animali che non devono ricevere il trattamento e verificare che l'acqua sia adeguata alla somministrazione. Infine, è premura dell'allevatore verificare che le attrezzature sfruttate per la somministrazione orale siano usate e pulite adeguatamente [59].

5.2 ANIMALI NDPA

Nonostante la valutazione del rischio ambientale sia obbligatoria per tutti i medicinali veterinari, per quelli destinati ad essere somministrati agli animali NDPA, indipendentemente che siano antiparassitari o meno, la valutazione del rischio ambientale termina in fase I senza calcolare il QR, perché si ritiene che la somministrazione non intensiva e i ridotti volumi di medicinali impiegati per ciascun animale abbiano un minore impatto ambientale. Tuttavia, visto l'elevato numero di cani e di gatti e l'aumento dell'uso degli ectoparassitici è importante non sottovalutare l'ecotossicità che potrebbe derivarne.

Analogamente agli animali DPA, i comparti ambientali che possono essere esposti agli antiparassitari sono il terreno e le acque, ma le vie con cui ciò avviene sono molteplici come riporta la Figura 20.

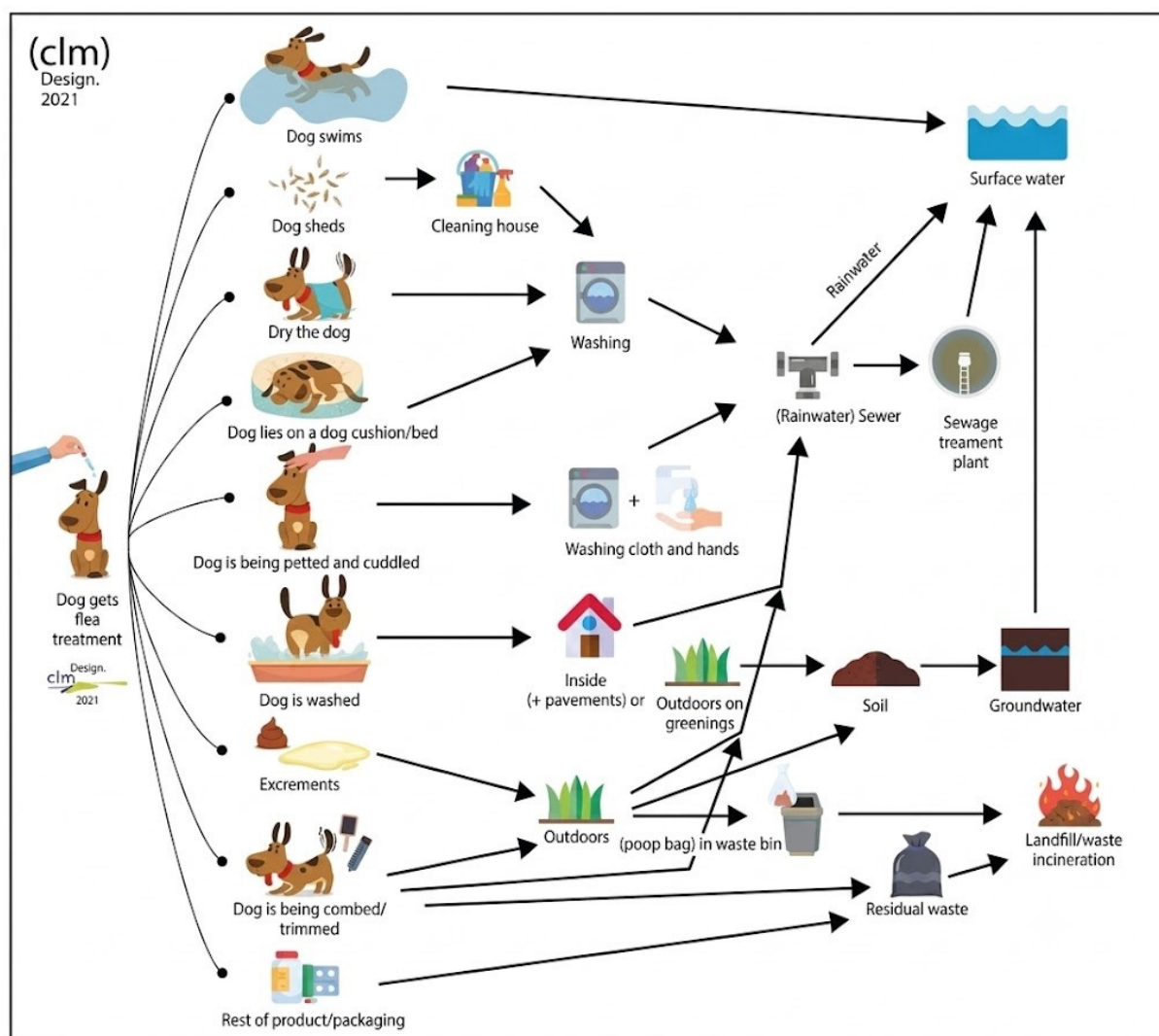


Figura 20: vie di esposizione dell'ambiente agli ectoparassitici per animali NDPA [60]

Il compartimento ambientale soggetto a maggiore inquinamento è quello delle acque superficiali, a causa del maggiore utilizzo di medicinali ad applicazione cutanea rispetto a quelli ad uso sistemico. L'unico contatto diretto con le acque di superficie avviene durante il nuoto del cane, mentre la contaminazione indiretta si verifica per trasferimento della sostanza dalla cute e dal pelo ai tessuti, agli indumenti e alle mani durante l'accarezzamento, e in seguito al lavaggio il farmaco viene trasferito nelle acque reflue. Anche l'utilizzo di shampoo antiparassitari inquina inevitabilmente le acque reflue. È probabile che anche la polvere

domestica possa contenere tracce di sostanze antiparassitarie ma al momento, essendo le conoscenze in merito insufficienti, non è possibile quantificarle [60].

Per quanto riguarda gli ectoparassitici ad azione sistemica, al momento non sono ancora stati condotti studi atti a valutare le emissioni ambientali in termini quantitativi. Per i prodotti somministrati per via parenterale o enterale che vengono eliminati in forma imm modificata con le feci, come le isoxazoline, l'esposizione ambientale dipende dalla gestione degli escrementi. A seconda che vengano raccolti con i rifiuti ed inceneriti o smaltiti in discarica oppure che siano lasciati in natura, si possono contaminare il suolo o le acque sotterranee. Per gli spot-on ad effetto sistemico andrebbe considerato anche l'inquinamento tramite il pelo e la cute appena dopo l'applicazione oltre a quello fecale [60].

Sono diversi gli studi che riportano la presenza di farmaci antiparassitari nelle acque superficiali, in particolare elevate concentrazioni di imidacloprid e fipronil sono state rilevate nei fiumi inglesi [60]. L'imidacloprid persiste a lungo nell'ambiente, gli effetti tossici si manifestano nei confronti dei pesci, dei lombrichi, ma soprattutto degli insetti, in particolare coccinelle e api mellifere. Il fipronil è altamente tossico per organismi acquatici, uccelli e api. È trattenuto nel terreno per circa 125 giorni, durante i quali può raggiungere i fiori e il polline. Considerato che queste due sostanze sono usate solo come parassitici per animali e biocidi, e che la loro applicazione in ambito agricolo è vietato a causa dell'impatto negativo sugli impollinatori, si ritiene che i medicinali veterinari contribuiscano all'inquinamento degli ambienti acquatici [57].

Nello studio inglese, dai quasi 4000 campioni di acqua prelevati da 20 fiumi, il fipronil era presente nel 98,6% dei campioni e ad una concentrazione media 5,3 volte superiore agli standard di qualità ambientale. L'imidacloprid contaminava il 65,9% dei campioni nei quali era presente ad una concentrazione media di poco al di sotto dei limiti di sicurezza. I livelli più alti sono stati rinvenuti nei siti a valle degli impianti di trattamento delle acque reflue; questo indica la possibilità che elevate quantità di ectoparassitici possano riversarsi nelle acque attraverso gli scarichi domestici [60].

Le vie di esposizione del comparto terrestre agli ectoparassitici sono poco chiare e quelle tramite feci e urine sono ritenute più trascurabili. Sebbene gli studi sui potenziali effetti tossici nei confronti della fauna selvatica siano scarsi, recentemente è stato documentato un aumento

di mortalità dei pulcini di cinciallegra e una minore schiusa delle uova in seguito all'uso di peli di animali trattati con imidacloprid per la costruzione dei nidi [60].

Alla luce dell'evidente ecotossicità degli ectoparassitici destinati agli animali NDPA, l'esecuzione dell'ERA appare urgente; tuttavia, al momento, non sono ancora state delineate linee guida dedicate perché ci sono ancora carenze conoscitive riguardanti gli scenari di esposizione e gli effetti delle classi di principi attivi sui comparti ambientali. L'EMA ha in programma di pubblicare le linee guida entro il 2030; nel frattempo, sarebbe opportuno adottare misure di mitigazione del rischio armonizzate in tutta l'Unione Europea, cosa che attualmente non avviene. L'EMA propone di riportare sul riassunto delle caratteristiche del prodotto dei collari antiparassitari l'indicazione di tossicità del principio attivo e l'avvertimento di rimuovere il collare prima che il cane entri a contatto con l'acqua. Similmente, per gli spot-on dovrebbero essere riportati gli effetti tossici sui comparti ambientali e l'avvertenza di non far entrare il cane in acqua nelle 48 ore successive all'applicazione [60, 61].

In aggiunta, sarebbe utile che veterinari e farmacisti promuovessero un uso responsabile degli ectoparassitici, dando informazioni in merito all'applicazione e allo smaltimento del medicinale [57].

CONCLUSIONE

In questo lavoro di tesi sono state esaminate le modalità di somministrazione degli antiparassitari contro i parassiti esterni per gli animali DPA e NDPA e gli aspetti normativi relativi alla gestione del rischio sanitario umano e ambientale, poiché, secondo l'approccio *One Health*, il benessere globale si ottiene solo preservando la salute degli animali, delle persone e degli ecosistemi, le quali dipendono l'una dall'altra.

Vista l'eterogeneità degli ectoparassiti, le loro diverse abitudini alimentari e le specie target che infestano, è necessario sviluppare trattamenti che siano efficaci e sicuri in ogni diversa specie. Il controllo degli artropodi si basa sull'utilizzo di medicinali che agiscono come insetticida/acaricida, inibitori della crescita o repellenti.

Per gli animali DPA la classe di principi attivi più usata è quella dei lattoni macrociclici perché garantiscono un duplice effetto sui parassiti esterni ed interni con un unico intervento terapeutico. Per gli animali NDPA i più utilizzati sono quelli appartenenti alle classi più recenti, cioè i neonicotinoidi e le isoxazoline perché hanno un ampio spettro d'azione e un migliore profilo di sicurezza, infatti sono sicuri anche per gli animali portatori della mutazione MDR1.

La scelta dei trattamenti e delle vie di somministrazione è dettata dalle modalità di alimentazione degli ectoparassiti, dalle differenze anatomiche degli animali target, dalle modalità di allevamento, dalla facilità di somministrazione avendo come obiettivo quello di ottenere la maggiore efficacia e compliance.

Per quanto riguarda gli animali DPA, i trattamenti ad applicazione cutanea sono usati soprattutto per bovini e ovini che, grazie alla maggiore produzione sebacea e alla densità del pelo, trattengono meglio i farmaci lipofili, rispetto a quanto avverrebbe nei suini o nei polli. La somministrazione orale è preferita per gli animali monogastrici non erbivori, cioè maiali e polli, per i quali si usano rispettivamente premiscele e medicinali assunti tramite l'acqua di abbeveraggio. In entrambi i casi la scelta degli eccipienti e delle tecniche formulative, come la produzione di microsfele, è fondamentale per garantire la stabilità del farmaco e migliorarne il profilo farmacocinetico e, quindi, l'efficacia terapeutica. La somministrazione parenterale è molto usata per i mammiferi DPA, la scelta tra la via sottocutanea o intramuscolare è dettata dalla farmacocinetica del farmaco e dalla differenza nella quantità di tessuto adiposo sottocutaneo, maggiore nei suini rispetto ai bovini. Per ridurre la frequenza di somministrazione sono state sviluppate formulazioni a rilascio prolungato a base di veicoli lipofili, solventi

organici e polimeri, come l'acido polilattico co-glicolico. È stato ideato anche un impianto contenente ivermectina la cui somministrazione a bovini e suini, potrebbe permettere l'eliminazione delle zanzare che veicolano la malaria all'uomo; questo rappresenta un valido esempio di applicazione dell'approccio *One Health*.

Negli animali NDPA, si fa un maggiore uso di trattamenti ad applicazione cutanea, come spray, shampoo e polveri, ma hanno una scarsa persistenza sulla pelle. Vengono perciò preferiti i dispositivi indossabili come i collari che rilasciano il farmaco in modo continuativo per lunghi periodi di tempo oppure gli spot-on che, grazie ai veicoli lipofili, facilitano la distribuzione e la permanenza del principio attivo sulla cute e sul pelo. Ad eccezione degli spot-on a base di isoxazoline, nei quali sono aggiunti degli *enhancer* per favorire l'assorbimento sistemico, i prodotti ad azione cutanea hanno lo svantaggio di non distribuirsi uniformemente su tutto il corpo e possono essere rimossi in seguito al contatto con l'acqua.

Quindi una valida alternativa è ricorrere alla somministrazione orale di compresse masticabili rese appetibili grazie all'aggiunta di eccipienti aromatizzanti che incontrino il gusto di cani e gatti. Altri aspetti da tenere in considerazione durante la formulazione di queste forme farmaceutiche sono il colore, la dimensione e la durezza perché influenzano la compliance. L'unica formulazione iniettiva ad effetto ectoparassitocida, destinata ai cani, è a base di fluralaner che assicura il maggiore periodo di protezione disponibile sul mercato.

La lunga durata d'azione, ideale per gli animali da compagnia, pone però il problema della sicurezza alimentare negli animali DPA. Infatti, se da un lato l'elevata persistenza degli ectoparassitocidi nei tessuti animali è funzionale alla loro efficacia, dall'altro rappresenta un rischio per la salute del consumatore. A sua tutela, la normativa europea obbliga di stabilire i LMR basandosi su un approccio cautelativo, garantito dall'utilizzo del paniere alimentare standard capace di tutelare al meglio le popolazioni più sensibili e vulnerabili. Per evitare che i limiti vengano superati è essenziale rispettare i tempi di attesa, stabiliti per ogni medicinale commercializzato per gli animali DPA, e le specie di destinazioni dei trattamenti.

Un altro rischio che emerge dall'utilizzo di tali sostanze è quello rappresentato dall'ecotossicità dimostrata nei confronti di fauna, insetti non bersaglio e organismi acquatici. Per i medicinali destinati agli animali DPA la valutazione del rischio ambientale è obbligatoria in sede di AIC e i metodi di conduzione sono definiti dalle linee guida VICH e dall'EMA. Se in passato è stato sottovalutato l'aspetto ecotossicologico dei medicinali per gli animali NDPA, ora appare

evidente l'urgenza di colmare il vuoto normativo esistente in merito e, in attesa che ciò si verifichi, è opportuno adottare misure di mitigazione del rischio per i farmaci antiparassitari che hanno mostrato il maggior impatto ambientale.

In conclusione, la tutela della salute degli animali non può fare a meno dell'uso degli ectoparassitici e poiché questa è interconnessa a quella umana e ambientale, è importante che i farmacisti affianchino i veterinari per educare i proprietari degli animali e gli allevatori affinché rispettino le modalità d'uso dei medicinali, i tempi d'attesa e le misure di mitigazione del rischio. La normativa e le linee guida esistenti hanno già dato prova di essere strumenti fondamentali ma è essenziale che vengano aggiornate e corrette in modo che possano adattarsi al meglio all'evoluzione del mercato degli ectoparassitici.

LISTA ABBREVIAZIONI

DPA: destinato alla produzione di alimenti
NDPA: non destinato alla produzione di alimenti
GABA: acido gamma-amminobutirrico
DMSO: dimetilsolfossido
IVM: ivermectina
DRM: doramectina
BHA: butilidrossianisolo
BHT: butilidrossitoluene
EDTA: acido etilendiamminotetracetico
PVC: polivinilcloruro
CVMP: Comitato per i medicinali veterinari
EMA: Agenzia europea per i medicinali
NOAEL: No Observed Adverse Effect Level
DGA: dose giornaliera ammissibile
VICH: Veterinary International Conference on Harmonization
TMDI: assunzione giornaliera massima teorica
LMR: limite massimo dei residui
FAO: Food and Agriculture Organization
OMS: Organizzazione mondiale della sanità
ISRRV: valore di riferimento per i residui nel sito di inoculo
TTSC: time to safe concentration
AIC: autorizzazione di immissione in commercio
EFSA: Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare
ERA: valutazione del rischio ambientale
PEC: predicted environmental concentration
PNEC: predicted no-effect concentration
OCSE: Organizzazione per la cooperazione e lo sviluppo economico
EC50: concentrazione efficace 50
LC50: concentrazione letale 50
NOEC: No Observed Effect Concentration
QR: quoziente di rischio
BCF: fattore di bioconcentrazione

BIBLIOGRAFIA

- [1] Carla Maia, *Sand fly-borne diseases in Europe: epidemiological overview and potential triggers for their emergence and re-emergence*, Journal of Comparative Pathology, 2024, 209, 6-12
- [2] Paolo M. Selzer, et al., *Antiparasitics in Animal Health: Quo Vadis?*, Trends in Parasitology, 2021, 37, 77-89
- [3] Regolamento (CE) N. 767/2009 del Parlamento europeo e del consiglio del 13 luglio 2009 sull'immissione sul mercato e sull'uso dei mangimi, che modifica il regolamento (CE) n. 1831/2003 e che abroga le direttive 79/373/CEE del Consiglio, 80/511/CEE della Commissione, 82/471/CEE del Consiglio, 83/228/CEE del Consiglio, 93/74/CEE del Consiglio, 93/113/CE del Consiglio e 96/25/CE del Consiglio e la decisione 2004/217/CE della Commissione, G.U. UE n° 229 del 1.9.2009
- [4] Regolamento (UE) 2017/880 della Commissione del 23 maggio 2017 che stabilisce norme sull'applicazione di un limite massimo di residui fissato per una sostanza farmacologicamente attiva in un prodotto alimentare specifico a un altro prodotto alimentare ottenuto dalla stessa specie e di un limite massimo di residui fissato per una sostanza farmacologicamente attiva in una o più specie ad altre specie a norma del regolamento (CE) n. 470/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio, G.U. UE n° 135, 24.5.2017
- [5] FEDIAF, *Facts & Figures 2026*, <https://europeanpetfood.org/> (ultimo accesso: 15.06.2026)
- [6] V. Puccini, A. Giangaspero, D. Traversa, *Guida alle malattie parassitarie degli animali domestici*, Edagricole, Milano, 2021
- [7] M.A. Taylor, R.L. Coop, R.L. Wall, *Veterinary Parasitology*, Third edition, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 2007
- [8] J. Riviere, M. Papich, *Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Tenth Edition*, JohnWiley & Sons Inc., Hoboken, NJ, 2018
- [9] Dwight D. Bowman, *Georgis' Parassitologia veterinaria - 11ª ed.*, Antonio Delfino editore, Roma, 2022
- [10] Brian Speer, Yvonne R.A. van Zeeland, *Current Therapy in Avian Medicine and Surgery Volume II E-Book*, Elsevier Health Sciences, 2025
- [11] Paulina Markowska-Buńka et al., *Pharmacology and toxicology of veterinary isoxazolines: a review*, International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance, 2026, 31, 1-13
- [12] A. Lifschitz et al., *Macrocyclic lactones and ectoparasites control in livestock: Efficacy, drug resistance and therapeutic challenges*, International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance, 2024, 26, 1-13

- [13] Veterinary Medicine Information website, <https://medicines.health.europa.eu/veterinary/en> (ultimo accesso: 17.06.2026)
- [14] R. Barone, P. Simoens, *Anatomia comparata dei mammiferi domestici Vol. 7 Neurologia*, Edagricole – Edizioni Agricole di New Business Media Srl, Milano, 2020
- [15] H. E. König, H. Liebich, *Anatomia degli animali domestici, testo - atlante a colori, terza edizione italiana*, Piccin Nuova Libreria Spa, Padova, 2021
- [16] Esra Akat et al., *Comparison of vertebrate skin structure at class level: A review*, The Anatomical Record, 2022, 305, 3543-3608
- [17] Ramteke KH, et al., *Veterinary Pharmaceutical Dosage Forms: A Technical Note*. Austin Therapeutics., 2014, 1, 1-10
- [18] Bates P., *Plunge dipping – an age-old treatment for 21st century*, VetTimes, 2017, <https://www.vettimes.com/news/vets/livestock/plunge-dipping-an-age-old-treatment-for-21st-century> (ultimo accesso: 15.06.2026)
- [19] Souza, G.R., et al. *First evaluation of the efficacy and operational cost of acaricidal bath combining different droplet sizes, pressures and spray patterns in dairy cows naturally infested with Rhipicephalus microplus*, Trop Anim Health Prod 2025, 57, 1-9
- [20] Vanessa Ferreira Salvador et al., *Efficacy and hair deposition of pyrethroid- and organophosphate-based acaricides applied at different working pressures for the control of Rhipicephalus microplus in dairy cattle*, Veterinary Parasitology, 2026, 343, 1-7
- [21] Eran Lavy et al. *Aspects in controlled drug delivery for topical applications in veterinary medicine*, Veterinary and Animal Science, 2022, 15, 1-9
- [22] Smaragda Sotiraki et al., *Efficacy of eprinomectin 5 mg/mL topical solution administered twice pour on at 1 mg per kg body weight against sarcoptic mange (Sarcoptes scabiei) in sheep*, Veterinary Parasitology 2025, 337, 1-8
- [23] C. Belloli, S. Carli, P. Ormas, *Farmacologia Veterinaria, II edizione*, Edizioni Idelson-Gnocchi 1908 s.r.l., Napoli, 2021
- [24] B. Vermeulen et al., *Drug administration to poultry*, Advanced Drug Delivery Reviews, 2002, 54, 795-803
- [25] Classius Ferreira da Silva et al., *New Trends in Drug Delivery Systems for Veterinary Applications*, Pharmaceutical Nanotechnology, 2021, 9, 15-25
- [26] *European Pharmacopoeia, PhEur 12*, 2026, <https://pheur-online.edqm.eu/home/> (ultimo accesso: 17.06.2026)
- [27] Xu Y, et al., *Pharmacokinetics of extended-release ivermectin microspheres after oral administration to healthy pigs*, Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2020, 43, 485-490

- [28] Koppiseti, H., et al., *Unveiling the Future: Opportunities in Long-Acting Injectable Drug Development for Veterinary Care*, *Pharmaceutics*, 2025, 17, 1-47
- [29] C.M. Manasa et al., *Revolutionizing animal health: A comprehensive review of long-acting formulations*, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2024, 101, 1-9
- [30] M. Larroza et al., *Doramectin efficacy against Psoroptes ovis in sheep: Evaluation of pharmacological strategies*, *Experimental Parasitology*, 2020, 218, 1-5
- [31] Lia, R.P., Rehbein, S., Giannelli, A. et al. *LONGRANGE® (eprinomectin 5% w/v extended-release injection) efficacy against Hypoderma lineatum in an endemic area in southern Italy*, *Parasites Vectors*, 2019, 12, 1-6
- [32] Velho, M. C., et al., *Ivermectin: recent approaches in the design of novel veterinary and human medicines*, *Pharmaceutical Development and Technology*, 2022, 27, 865–880
- [33] Leonore C Witchey-Lakshmanan et al., *Long-acting control of ectoparasites: a review of collar technologies for companion animals*, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1999, 38, 113-122
- [34] Pfister, K., Armstrong, R. *Systemically and cutaneously distributed ectoparasitocides: a review of the efficacy against ticks and fleas on dogs*, *Parasites Vectors*, 2016, 9, 1-15
- [35] Panthawong A, Doggett SL, Chareonviriyaphap T., *The Efficacy of Ultrasonic Pest Repellent Devices against the Australian Paralysis Tick, Ixodes holocyclus (Acari: Ixodidae)*, *Insects*, 12, 2021, 1-8
- [36] Charles C. Adenot, Hend E. Abdelhakim, *Palatability assessment of oral dosage forms for companion animals: A systematic review*, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 77, 1-15
- [37] Petersen I, et al., *Clinical efficacy and safety of a single administration of fluralaner injectable suspension (BRAVECTO® injectable) vs. monthly administration of oral afoxolaner (NexGard®) in dogs for tick and flea control over one year under European field conditions*, *Parasites and Vectors*, 2024, 17, 1-10
- [38] Genchi, M., Venco, L., Fozzer, M. et al. *Efficacy and safety of a sustained-release formulation of ivermectin (FILAPREV®) in preventing heartworm infection (Dirofilaria immitis) in dogs in two endemic areas of Italy*, *Parasites Vectors*, 2026, 1-11
- [39] Regolamento (CE) N. 470/2009 del Parlamento europeo e del consiglio del 6 maggio 2009 che stabilisce procedure comunitarie per la determinazione di limiti di residui di sostanze farmacologicamente attive negli alimenti di origine animale, abroga il regolamento (CEE) n. 2377/90 del Consiglio e modifica la direttiva 2001/82/CE del Parlamento europeo e del Consiglio e il regolamento (CE) n. 726/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, G.U. UE n° 152 del 16.6.2009

- [40] Regolamento (UE) 2018/782 della Commissione del 29 maggio 2018 che stabilisce i principi metodologici della valutazione del rischio e delle raccomandazioni sulla gestione del rischio di cui al regolamento (CE) n. 470/2009, G.U. UE n°132 del 30.5.2018
- [41] VICH Steering Committee, *VICH GL 46 - Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food-producing animals: metabolism study to determine the quantity and identify the nature of residues*, Brussels, 2012
- [42] VICH Steering Committee, *VICH GL48 - Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food-producing animals: marker residue depletion studies to establish product withdrawal periods*, Brussels, 2016
- [43] Codex Alimentarius International food standards, *About Codex Alimentarius*, <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/home/en/> (ultimo accesso: 15.06.2026)
- [44] Regolamento (UE) n. 37/2010 della Commissione, del 22 dicembre 2009, relativo alle sostanze farmacologicamente attive e alla loro classificazione per quanto riguarda i limiti massimi di residui nei prodotti alimentari di origine animale, G.U. UE n°15 del 20.1.2010
- [45] European Medicines Agency (EMA), Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP). *Guideline on determination of withdrawal periods for edible tissues* (EMA/CVMP/SWP/735325/2012 Rev.2), Amsterdam, 2022
- [46] European Medicines Agency (EMA), Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP), *Guideline on injection site residues - Revision 1*, (EMA/CVMP/SWP/185470/2004-Rev.1), Amsterdam, 2024
- [47] European Medicines Agency (EMA), Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP), *Guideline on determination of withdrawal periods for milk*, (EMA/CVMP/SWP/735418/2012 Rev.1*), Amsterdam, 2022
- [48] Regolamento (UE) 2019/6 del Parlamento europeo e del consiglio dell'11 dicembre 2018 relativo ai medicinali veterinari e che abroga la direttiva 2001/82/CE, G.U. UE n° 4 del 7.1.2019
- [49] Regolamento di esecuzione (UE) 2024/875 della Commissione del 21 marzo 2024 relativo all'adozione di un elenco di abbreviazioni e pittogrammi comuni a tutta l'Unione da utilizzare sul confezionamento dei medicinali veterinari ai fini dell'applicazione dell'articolo 10, paragrafo 2, e dell'articolo 11, paragrafo 3, del regolamento (UE) 2019/6 del Parlamento europeo e del Consiglio, G.U. UE n°875 del 22.3.2024
- [50] Regolamento delegato (UE) 2022/1644 della Commissione del 7 luglio 2022 che integra il regolamento (UE) 2017/625 del Parlamento europeo e del Consiglio con prescrizioni specifiche per l'esecuzione dei controlli ufficiali sull'uso di sostanze farmacologicamente attive autorizzate come medicinali veterinari o come additivi per mangimi, e dei loro residui, e sull'uso di sostanze farmacologicamente attive vietate o non autorizzate e dei loro residui, G.U. UE n° 248 del 26.9.2022

[51] Regolamento di esecuzione (UE) 2022/1646 della Commissione del 23 settembre 2022 relativo alle modalità pratiche uniformi di esecuzione dei controlli ufficiali per quanto riguarda l'uso di sostanze farmacologicamente attive autorizzate come medicinali veterinari o come additivi per mangimi, e dei loro residui, e l'uso di sostanze farmacologicamente attive vietate o non autorizzate e dei loro residui, al contenuto specifico dei piani di controllo nazionali pluriennali e alle modalità specifiche per l'elaborazione degli stessi, G.U. UE n°248 del 26.9.2022

[52] Iannetti S, et al., *Estimation of the risk of fipronil ingestion through the consumption of contaminated table eggs for the Italian consumer*, Veterinaria Italiana, 58(2), 2022, 181-188

[53] European Medicines Agency (EMA), Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP), *Guideline on environmental impact assessment for veterinary medicinal products in support of the VICH guidelines GL6 and GL38*, (EMA/CVMP/ERA/418282/2005-Rev.1-Corr.1), London, 2016

[54] VICH Steering Committee, *VICH GL6-Environmental impact assessment for veterinary medicinal products - Phase I*, Brussels, 2000

[55] VICH Steering Committee, *VICH GL 38 -Environmental impact assessment for veterinary medicinal products - Phase II*, Brussels, 2005

[56] European Medicines Agency (EMA), Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP), *Reflection paper on higher testing to investigate the effects of parasitocidal veterinary medicinal products on dung fauna*, (EMA/CVMP/ERA/87473/2021), Amsterdam, 2021

[57] Anja Joachim et al., *Antiparasitics against ectoparasites in small animals– important pharmaceutical substances or underestimated environmental hazards?*, Veterinary Parasitology, 339, 1-12

[58] de Souza RB, Guimarães JR. *Effects of Avermectins on the Environment Based on Its Toxicity to Plants and Soil Invertebrates - a review*, Water, Air and Soil Pollution, 2022, 233, 1-23

[59] Regolamento delegato (UE) 2024/1159 della Commissione, del 7 febbraio 2024, che integra il regolamento (UE) 2019/6 del Parlamento europeo e del Consiglio definendo norme sulle misure adeguate per garantire l'impiego sicuro ed efficace dei medicinali veterinari autorizzati e prescritti per la somministrazione orale mediante vie diverse dai mangimi medicati e somministrati ad animali destinati alla produzione di alimenti dal detentore degli animali, G.U. UE n° 661 del 19.4.2024

[60] European Medicines Agency (EMA), Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP), *Reflection paper on the environmental risk assessment of ectoparasitocidal veterinary medicinal products used in cats and dogs*, (EMA/CVMP/ERA/31905/2021), Amsterdam, 2023

[61] European Medicines Agency (EMA), Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP), *Concept paper for the development of a guideline on the methodology of*

environmental risk assessment for ectoparasiticial VMPs for cats and dogs,
(EMA/CVMP/ERA/499198/2024), Amsterdam, 2025

RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare sentitamente la Prof.ssa Morel, che mi ha guidata in questo percorso di tesi con estrema disponibilità, gentilezza e attenzione.

Grazie ai miei genitori e a mia sorella, la vostra pazienza, l'appoggio costante e incondizionato e la fiducia che avete sempre riposto nelle mie capacità sono stati fondamentali.

Grazie a Gaia, la tua presenza, il tuo ascolto, i tuoi incoraggiamenti sono stati la mia ancora. Sei un'amica speciale.

Grazie ai miei compagni del mercoledì, l'attenzione e la cura con cui avete sempre accolto le mie (poche) parole e il vostro sprone mi hanno resa in grado di arrivare fino a qui, e sicuramente anche molto più lontano.

E infine, grazie al mio *muso ispiratore*, mi hai regalato luce e ossigeno. Sei e resterai sempre nei miei pensieri e nel mio cuore.