

DECRETO 4 marzo 2005
Revisione dei medicinali per uso veterinario.
Gazzetta Ufficiale n. 113 del 17-5-2005

IL MINISTRO DELLA SALUTE

Visto il testo unico delle leggi sanitarie, approvato con regio decreto il 27 luglio 1934, n. 1265, e successive modifiche;

Visto l'art. 29 della legge 23 dicembre 1978, n. 833, e successive modifiche;

Visto l'art. 16 del decreto legislativo 29 maggio 1991, n. 178, e successive modifiche;

Visto il decreto legislativo 27 gennaio 1992, n. 119, e successive modifiche;

Visto il regolamento (CEE) n. 2377/90 del Consiglio, del 26 giugno 1990, che definisce una procedura comunitaria per la determinazione dei limiti massimi di residui dei medicinali veterinari negli alimenti di origine animale;

Considerato che negli ultimi anni la Commissione europea ha definito i limiti massimi residuali per i principi attivi utilizzati nei medicinali per uso veterinario destinati alle specie da reddito al fine di consentire il monitoraggio dei residui nei tessuti ed organi degli animali trattati e la definizione di adeguati tempi di sospensione;

Tenuto conto che, per i medicinali per uso veterinario autorizzati prima dell'entrata in vigore dei limiti massimi residuali definitivi su richiamati, i tempi di sospensione potrebbero non essere adeguati;

Ritenuto, pertanto, necessario procedere ad una verifica dell'innocuità e dell'efficacia dei medicinali per uso veterinario attualmente autorizzati;

Rilevato che, nelle more della procedura di revisione non è possibile, per ragioni di tutela del benessere animale, diminuire la disponibilità di presidi terapeutici indispensabili alla cura degli animali;

Ritenuto, altresì, necessario tutelare la salute del consumatore di prodotti di origine animale stabilendo tempi di sospensione cautelativi;

Sentita la Commissione consultiva del farmaco veterinario, di cui all'art. 17-bis del decreto legislativo del 9 aprile 2003, n. 71, che, convenendo sulla necessità di fissare tempi di sospensione cautelativi da applicare d'ufficio ai medicinali per uso veterinario autorizzati o, comunque, immessi in commercio alla data del 1° gennaio 2000, ha elaborato la proposta degli stessi;

Acquisito il parere favorevole del Consiglio superiore di sanità, espresso nella seduta della IV sezione, riunitasi in data 22 dicembre 2004;

Decreta:

Art. 1.

1. È disposta la revisione di tutti i medicinali per uso veterinario destinati alle specie produttrici di alimenti per il consumo umano autorizzati o, comunque, immessi in commercio alla data del 1° gennaio 2000.

2. I titolari delle autorizzazioni all'immissione in commercio dei medicinali di cui al comma 1 devono presentare al Ministero della salute - Dipartimento della prevenzione e della comunicazione -

Direzione generale della sanità veterinaria e degli alimenti - Ufficio XI, un dossier predisposto come indicato nel presente decreto.

3. I dossiers di cui al comma 2 sono presentati secondo il calendario riportato in allegato 1.

4. Sono esclusi dall'applicazione del presente decreto i medicinali per uso veterinario per i quali sono già stati autorizzati i relativi tempi di sospensione a seguito della presentazione di studi di deplezione residuale, condotti tenendo conto dei limiti massimi residuali definitivi previsti per il principio attivo o i principi attivi presenti nella composizione, stabiliti dal regolamento (CE) 2377/90 del Consiglio ed effettuati secondo le linee guida comunitarie attualmente in vigore. I titolari delle autorizzazioni all'immissione in commercio di detti medicinali devono dichiarare, ai fini dell'esclusione, la sussistenza delle condizioni del presente comma.

5. Ove il medicinale per uso veterinario sia autorizzato anche per specie animali non da reddito, si applica integralmente il comma 1, salvo che il titolare dell'autorizzazione all'immissione in commercio non presenti, secondo le procedure in vigore, apposita domanda di modifica degli stampati al fine di separare le confezioni destinate agli animali da reddito da quelle destinate agli animali da compagnia.

Art. 2.

1. La documentazione tecnico-scientifica inerente i medicinali per uso veterinario di cui all'art. 1 è redatta conformemente all'allegato I del decreto legislativo 27 gennaio 1992, n. 119, e successive modifiche ed integrazioni e nel rispetto delle linee guida emanate in sede comunitaria.

2. La documentazione a sostegno della congruità dei tempi di sospensione già autorizzati o per il loro adeguamento deve tener conto dei limiti massimi residuali definiti in sede comunitaria per ogni sostanza farmacologicamente attiva presente nella composizione del medicinale.

3. Gli specifici studi sperimentali di deplezione residuale devono essere condotti secondo quanto indicato nell'apposita linea-guida di cui all'allegato 2.

4. La documentazione di efficacia clinica deve essere presentata se sussistono variazioni o carenze negli ultimi stampati autorizzati rispetto a quanto previsto dalla normativa in vigore per quanto riguarda le indispensabili informazioni necessarie al fine di una corretta somministrazione del farmaco. Qualora la documentazione relativa all'efficacia clinica sia presentata in forma bibliografica, comunque strettamente attinente alle caratteristiche del prodotto, al dossier deve essere acclusa la bibliografia di riferimento, approntata in modo da consentire un'agevole consultazione.

5. La documentazione di tecnica farmaceutica deve essere presentata a seguito di carenze evidenziate sugli stampati approvati che non consentano un corretto impiego del medicinale.

Art. 3.

1. La valutazione della documentazione tecnico-scientifica è effettuata avvalendosi della Commissione consultiva del farmaco veterinario di cui all'art. 17-bis del decreto legislativo 27 gennaio

1992, n. 119, e successive modifiche ed integrazioni. L'ufficio competente si riserva di richiedere, ove necessario, una documentazione integrativa.

Art. 4.

1. Sono, altresì, stabiliti per i medicinali per uso veterinario di cui all'art. 1 tempi di sospensione cautelativi, calcolati secondo quanto riportato nella tabella di cui all'allegato 3.

2. Le ditte titolari delle autorizzazioni all'immissione in commercio dei medicinali per uso veterinario di cui al comma 1 devono, entro sei mesi dalla data di pubblicazione del presente decreto, modificare quanto riportato negli stampati illustrativi autorizzati, aggiornando il materiale di confezionamento e l'eventuale foglietto illustrativo con i tempi di sospensione cautelativi. E' cura delle ditte stesse assicurare che siano intraprese tutte le misure necessarie affinché non entrino nel circuito commerciale, alla scadenza dei sei mesi previsti, medicinali per uso veterinario non conformi a quanto disposto dal presente comma.

3. In deroga a quanto previsto al comma 1, le ditte che possono dimostrare, entro trenta giorni dalla data di pubblicazione del presente decreto, di aver effettuato, per uno o più medicinali per uso veterinario di cui sono titolari dell'autorizzazione all'immissione in commercio, appositi studi sperimentali di deplezione residuale o, comunque, di averli in esecuzione o commissionati ad un idoneo laboratorio/centro, sono esentate, per tali medicinali, dall'applicazione dei tempi di sospensione cautelativi di cui al comma 1.

4. Entro sessanta giorni dalla pubblicazione del presente decreto e' pubblicato nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana l'elenco dei medicinali per uso veterinario per i quali sono definiti, per ciascuna specie di destinazione produttrice di alimenti di origine animale autorizzata, i tempi di sospensione cautelativi di cui al comma 1. Detti tempi di sospensione devono essere applicati dai medici veterinari prescrittori a partire dal quindicesimo giorno dalla pubblicazione dell'elenco.

5. Il Ministero della salute provvederà alla più ampia diffusione, anche tramite le organizzazioni dei veterinari e le associazioni di categoria, delle disposizioni di cui al presente decreto, in particolare ai fini dell'applicazione del comma 4 del presente articolo. Le ditte titolari delle autorizzazioni all'immissione in commercio dei medicinali per uso veterinario per i quali sono stati definiti i tempi di sospensione cautelativi, provvedono ad informare in modo efficace e capillare tutte le figure professionali che operano nel settore del farmaco veterinario al fine del rispetto dei tempi di sospensione cautelativi stabiliti.

6. I tempi di sospensione cautelativi di cui al comma 1, stabiliti per uno o più medicinali per uso veterinario, sono aumentati se dagli esiti della valutazione della documentazione di deplezione residuale relativa ad un medicinale per uso veterinario avente composizione sovrapponibile e' stato evidenziato un tempo di sospensione maggiore rispetto a quello cautelativo stabilito.

7. I tempi di sospensione attribuiti ai medicinali per uso veterinario compresi nell'elenco di cui al comma 4 sono, comunque, suscettibili di modifica secondo le normali procedure attualmente in

vigore, su richiesta delle ditte titolari dell'autorizzazione all'immissione in commercio.

Art. 5.

1. Il mancato invio, entro le scadenze indicate nell'allegato 1 al presente decreto o la non conformita' alla linea guida della documentazione relativa agli studi sperimentali di deplezione residuale, da parte delle ditte titolari dell'autorizzazione all'immissione in commercio dei medicinali per uso veterinario che usufruiscono della deroga prevista dall'art. 4, comma 3 del presente decreto, comporta la revoca dell'autorizzazione del medicinale, ai sensi delle disposizioni vigenti.

Art. 6.

1. Il Ministero della salute si riserva di rivalutare, sotto il profilo della cinetica residuale, i medicinali per uso veterinario ai quali sono stati applicati i tempi di sospensione cautelativi secondo quanto previsto dall'art. 4, comma 1.

Art. 7.

1. Il presente decreto e' inviato alla Corte dei conti per la registrazione ed entra in vigore alla data di pubblicazione nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana.

Roma, 4 marzo 2005

Il Ministro: Sirchia

Registrato alla Corte dei conti il 26 aprile 2005

Ufficio di controllo preventivo sui Ministeri dei servizi alla persona e dei beni culturali, registro n. 2, foglio n. 132

Allegato I

L'invio della documentazione tecnico-scientifica andra' effettuato entro i tempi sottoindicati per ogni categoria di medicinale per uso veterinario, a partire dalla pubblicazione del presente decreto:

entro trentasei mesi: medicinali per uso veterinario contenenti principi attivi ad attivita' antibatterica (ad esclusione dei preparati per uso orale);

entro quarantadue mesi: medicinali per uso veterinario contenenti principi attivi ad attivita' antinfiammatoria;

entro quarantotto mesi: medicinali per uso veterinario contenenti principi attivi ad attivita' sistemica antiparassitaria.

entro cinquantaquattro mesi: principi attivi ad attivita' antibatterica per uso orale, premiscele per alimenti medicamentosi e medicinali veterinari prefabbricati.

Il Ministero della salute si riserva di richiedere in tempi successivi la documentazione tecnico-scientifica relativa ad altre tipologie di medicinali per uso veterinario per le quali, in base ad una analisi del rischio, si renda necessario un approfondimento relativo agli aspetti di deplezione residuale, di efficacia clinica o di tossicita'.

Allegato II

LINEE GUIDA

Proposta di linea guida per l'esecuzione di studi di deplezione residuale in specie animali destinate alla produzione di alimenti per l'uomo.

Scopo e campo di applicazione.

La presente linea guida ha lo scopo di raggruppare le indicazioni presenti nella normativa europea circa i requisiti degli studi di deplezione residuale eseguiti in specie animali produttrici di alimenti destinati all'uomo e di integrare tali indicazioni in modo da consentire una omogeneità nei criteri con cui vengono allestite e condotte queste sperimentazioni. In particolare risponde alla necessità di sviluppare le problematiche derivanti dagli aspetti peculiari della realtà zootecnica italiana, quali ad esempio l'allevamento cunicolo e di selvatici.

Le indicazioni fornite dalla presente linea guida si applicano a tutti gli studi finalizzati a determinare il tempo di sospensione dei medicinali veterinari destinati ad essere immessi in commercio, siano essi sotto forma di specialità, medicinale veterinario prefabbricato o di premiscela per alimenti medicamentosi.

Normativa di riferimento:

- 1) decreto del Presidente della Repubblica n. 236/1988 attuazione della direttiva n. 80/778/CEE concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano;
- 2) regolamento (CEE) n. 2377/90 del Consiglio, del 26 giugno 1990, che definisce una procedura comunitaria per la determinazione dei limiti massimi di residui di medicinali veterinari negli alimenti di origine animale;
- 3) decreto-legge n. 116/1992 attuazione della direttiva n. 86/609/CEE in materia di protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici;
- 4) decreto-legge n. 119/1992 attuazione delle direttive n. 81/851/CEE, n. 81/852/CEE, n. 87/20/CEE e n. 90/676/CEE relative ai medicinali veterinari;
- 5) decreto-legge n. 120/1992 attuazione delle direttive n. 88/320/CEE e n. 90/18/CEE in materia di ispezione e verifica della Buona pratica di laboratorio (BPL) come modificata dal decreto ministeriale 2 agosto 1999 disposizioni relative all'ispezione e verifica della buona prassi di laboratorio in recepimento delle direttive 1999/11/CE e 1999/12/CE;
- 6) EMEA/CVMP/036/95-FINAL. Note for guidance: approach towards harmonisation of withdrawal periods;
- 7) EMEA/CVMP/153a/97-FINAL. Note for guidance on the establishment of maximum residue limits for minor animal species;
- 8) EMEA/CVMP/153b/97-FINAL. Note for guidance on the establishment of maximum residue limits for Salmonidae and other fin fish;
- 9) EMEA/CVMP/473/98-FINAL. Note for guidance for the determination of withdrawal periods for milk;
- 10) EMEA/CVMP/187/00-FINAL. Note for guidance on the risk analysis approach for residues of veterinary medicinal products in food of animal origin;

11) volume 8 Notice to applicants and note for guidance. Establishment of maximum residue limits (MRLs) for residues of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. September 2001;

12) direttiva 2001/82/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 6 novembre 2001 recante un codice comunitario relativo ai medicinali veterinari allegato 1. Titolo 1. Parte 3B Studio dei residui;

13) decisione 2002/657/CE della Commissione del 12 agosto 2002 che attua la direttiva 96/23/CE del Consiglio relativa al rendimento dei metodi analitici e all'interpretazione dei risultati.

Esecuzione degli studi.

Negli studi di deplezione residuale si possono distinguere due fasi, una zootecnica e una analitica. La prima si svolge in una stalla dove gli animali sono mantenuti e sottoposti a trattamento farmacologico e in un macello autorizzato dove si eseguono i prelievi dei tessuti e/o organi. In alternativa questa fase può svolgersi interamente in uno stabulario autorizzato. La fase analitica ha luogo in un laboratorio di analisi dove vengono eseguite le determinazioni dei residui nei tessuti target. La fase zootecnica deve essere eseguita presso centri che operino in accordo con le BPL. Gli studi analitici devono essere condotti presso centri di saggio dotati di certificazione attestanti le BPL oppure presso strutture pubbliche (Istituto superiore di sanità, istituti zooprofilattici sperimentali, università e centri di ricerca) non certificate secondo le Buone pratiche di laboratorio (BPL), che operino sulla base dell'osservanza dei criteri sperimentali riportati nella presente linea guida.

I dati grezzi inerenti sia alla fase zootecnica che a quella analitica devono essere conservati presso il centro di saggio per almeno cinque anni.

1. Animali e condizioni di stabulazione.

La normativa europea distingue le specie zootecniche in maggiori e minori. Questa distinzione è primariamente finalizzata a facilitare l'iter per la definizione dei limiti massimi di residui nelle specie cosiddette minori e, anche se non investe direttamente le modalità di esecuzione degli studi residuali, viene adottata nel presente documento per facilitare la classificazione.

In questa sezione si affronta fondamentalmente il problema della numerosità degli animali per gruppo, che varia in funzione della specie. La normativa europea fornisce raccomandazioni circa il numero di animali da utilizzare negli studi di deplezione finalizzati alla definizione dei limiti massimi di residui e solo in alcuni casi definisce anche il numero di animali da utilizzare negli studi di deplezione finalizzati a determinare il tempo di sospensione. A questo fine il numero di animali indicato nella normativa per la definizione dei limiti massimi di residui va inteso come numero minimo, tenendo presente che l'approccio statistico alla determinazione dei tempi di attesa necessita in alcuni casi di un numero di animali superiore. Anche se mancano ulteriori dettagli, questo aspetto è sottolineato nel volume 8, pag. 67 (Notice to

applicants and note for guidance. Establishment of maximum residue limits (MRLs) for residues of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. September 2001). Inoltre, l'inserimento di alcuni animali in soprannumero rispetto a quello minimo garantisce inoltre il buon esito dell'esperimento nel caso di episodi di mortalità o di esclusione dalla prova di soggetti con patologie in atto.

1.1. Specie maggiori.

Le specie maggiori sono rappresentate da bovini e ovini da carne, bovini da latte, suini, polli (sia come produttori di carne che di uova da consumo), salmonidi e api.

1.1.1. Bovini.

All'interno del gruppo dei bovini sono compresi i bovini da latte e da carne oltre ai vitelli. Nei bovini da latte la deplezione residuale viene studiata sul latte. In questo caso il numero raccomandato di animali, per poter eseguire una valutazione statistica dei risultati e in particolare per definire il limite superiore di tolleranza della regressione dei residui è di almeno diciannove animali. Per i vitelli e i bovini da carne sono previsti gruppi di almeno quattro animali per ogni punto di macellazione.

Un medicinale veterinario destinato al bovino da carne viene in pratica utilizzato su animali di peso ed età notevolmente variabile. In questo caso gli animali su cui eseguire lo studio dei residui devono essere scelti basandosi sulle indicazioni riportate nel foglio illustrativo e devono comunque essere destinati alla produzione della carne ed essere ruminanti, a meno che non ci siano specifiche indicazioni per il vitello da latte.

1.1.2. Pecore (da carne).

Sono previsti almeno quattro animali per ogni punto di macellazione.

1.1.3. Suini.

Sono previsti almeno quattro animali per ogni punto di macellazione.

1.1.4. Polli (carne).

Nel caso di studi di residui nella carne la normativa prevede almeno sei polli da carne (broiler) per ogni punto di macellazione, ma è opportuno che il protocollo sperimentale fissi in almeno otto gli animali di ogni singolo gruppo. Questa prassi tutela il buon esito dell'esperimento nel caso si verificano episodi di mortalità o si sia costretti a escludere, per motivazioni diverse, degli animali dalla sperimentazione.

1.1.5. Polli (uova).

Nel caso di studi condotti su ovaiole il numero degli animali deve essere sufficiente a garantire una produzione di almeno dieci uova per punto sperimentale: si ritiene di suggerire un approccio cautelativo che preveda venti animali in ovodeposizione per gruppo.

1.1.6. Pesci (salmonidi).

Sono previsti dieci animali per ogni punto di osservazione. Anche in questo caso si ritiene opportuno aumentare a tredici-quindici animali il numero dei soggetti trattati per ogni tempo di macellazione; ciò al fine di tutelare il buon esito della sperimentazione nel caso si verificano episodi di mortalità o si sia costretti a escludere, per motivazioni diverse, degli animali dalla sperimentazione. In genere si prevede l'impiego di pesci di circa 200 g.

1.1.7. Api.

Sono previsti trattamenti su almeno cinque alveari con cinque prelievi da ciascuno di essi ai tempi prestabiliti dal protocollo sperimentale; i prelievi del miele saranno fissati in base al momento in cui e' stato fatto il trattamento e all'andamento della produzione.

1.2. Specie minori.

Tra le specie minori sono comprese specie ruminanti domestiche e selvatiche come la bufalina e la caprina (intese come produttrici di carne e di latte), gli ovini (intesi come produttori di latte, le specie aviarie diverse dal pollo (intese come produttrici di carne e di uova), le specie ittiche non-salmonidi ed altre specie come quella equina e quella cunicola. Non esistono indicazioni precise circa la numerosita' dei gruppi sperimentali negli studi di deplezione residuale sulle specie minori. Si ritiene pero' che possano essere estesi i criteri adottati per quelle maggiori, come specificato in tabella.

Specie maggiore di riferimento	Specie minore	N. animali per gruppo
Bovini (carne)	Altri ruminanti (caprini da carne, bufali, ecc.)	4 (consigliati 5)
Bovini (latte)	Altri ruminanti (ovini, caprini, bufalini, ecc.)	19
Polli	Altri volatili (tacchini, fagiani, quaglie, selvaggina da penna, struzzo)	6 (consigliati 8); per le uova raccomandati 20
Bovini	Equini	4
Monogastrici	Conigli	6 (consigliati 8)*
Salmonidi	Altri pesci	10 (consigliati 13-15)

* Le specie maggiori di riferimento per il coniglio sono quelle monogastriche; ne consegue che la sperimentazione deve prevedere almeno quattro animali per ogni tempo di macellazione. Le dimensioni dei soggetti appartenenti alla specie cunicola e la possibilita' di stabulazione in spazi relativamente limitati consente pero' di aumentare il numero di animali per ogni punto di macellazione a sei-otto, in modo da consentire la disponibilita' di un numero maggiore di dati che permettano una piu' agevole valutazione dei risultati dello studio ed una piu' idonea proposta di tempo di sospensione.

Si sottolinea inoltre che un aumento del numero dei soggetti e' particolarmente importante in questa specie in considerazione della

criticità di allevamento e della peculiare sensibilità a patologie diverse.

1.3. Condizioni di stabulazione.

1.3.1. Tipo di stabulazione.

Il tipo di stabulazione deve riproporre, per quanto possibile, le abituali condizioni di allevamento. Pertanto, in assenza di adeguate e reali motivazioni, è preferibile non ricorrere all'impiego di gabbie da stabulario. Inoltre, qualora esistano diverse tipologie di allevamento, quella riproposta dovrebbe essere quella che presenta la massima possibilità di contatto tra gli animali e gli escrementi tramite i quali il farmaco somministrato ed i suoi eventuali metaboliti vengono eliminati.

Ad esempio, per il suino la stabulazione a terra rispetto a quella su grigliato appare più «sfavorevole» all'allontanamento dei residui, e quindi uno studio eseguito in queste condizioni dovrebbe fornire risultati in grado di garantire una maggiore tutela della salute del consumatore. In ogni caso il tipo di stabulazione deve essere conforme alle disposizioni vigenti sul benessere animale.

1.3.2. Identificazione degli animali.

Gli animali devono essere identificati singolarmente, con marca auricolare, tatuaggio od appositi bracciali, anche se mantenuti in box multipli. Questa misura, che per alcune specie rappresenta già una pratica zootecnica, consente un maggiore controllo sugli animali in esperimento durante lo svolgimento della prova.

1.3.3. Alimentazione e abbeverata.

Durante il periodo di acclimatamento e quello di sperimentazione deve essere utilizzato il medesimo mangime impiegato nell'allevamento di provenienza degli animali, in modo da minimizzare lo stress conseguente al trasporto e al cambio di ambiente.

Le caratteristiche chimico-fisiche dell'acqua sono importanti quando la somministrazione del farmaco avviene tramite sua solubilizzazione nell'acqua di abbeverata. Conoscere una serie di parametri quali pH; durezza; concentrazioni di nitriti e nitrati, ammoniaca, calcio e ferro; conducibilità, può essere d'aiuto nella valutazione dell'idoneità del trattamento. È opportuno indagare questi aspetti anche, ad esempio, durante il periodo di acclimatamento degli animali.

Nell'allevamento del coniglio per ottenere elevati incrementi ponderali è prassi abituale l'utilizzo di un'acqua artificialmente addolcita e/o acidificata; uno studio di deplezione residuale con somministrazione del medicinale con l'acqua di abbeverata deve tenere conto di questa prassi zootecnica.

1.3.4. Altri trattamenti.

Normalmente è buona prassi utilizzare animali sani e non sottoposti ad alcun trattamento farmacologico.

Nell'allevamento del coniglio, del pollo, del tacchino e dei volatili in generale in molti casi gli animali sono sottoposti per

gran parte del ciclo produttivo a trattamenti con coccidiostatici. Nel caso il trattamento con coccidiostatici non possa essere interrotto durante la fase sperimentale, sarà necessario verificare l'assenza di interferenza analitica del/i coccidiostatico/i con la determinazione del/i residuo/i marcatore/i.

1.3.5. Determinazione del peso vivo.

Il peso degli animali deve essere determinato all'inizio della sperimentazione e immediatamente prima dei trattamenti per consentire la somministrazione della dose preconizzata. Se il trattamento è ripetuto per 3-5 giorni il peso vivo deve essere determinato anche alla fine del trattamento. Per durate di trattamento superiori è necessaria una determinazione del peso vivo a metà circa del periodo di trattamento finalizzata all'aggiustamento della dose. Un'ultima pesata deve essere effettuata prima della macellazione. Si ritiene che 4 rilievi ponderali effettuati per ciascun animale siano indispensabili per un corretto monitoraggio del metabolismo animale.

1.3.6. Controllo clinico.

Questa tipologia di esperimenti deve essere eseguita su animali sani. Lo stato di salute degli animali deve pertanto essere verificato e registrato da un medico veterinario mediante una visita approfondita al momento dell'arrivo degli animali sul luogo dello studio e mediante ulteriori controlli a scadenze giornaliere.

Il rilievo clinico di una patologia che investe almeno il 20% degli animali deve determinare la sospensione e l'invalidamento della prova.

1.3.7. Periodo di acclimatamento.

Il periodo di acclimatamento è finalizzato a neutralizzare lo stress da trasporto, a consentire l'eliminazione dei farmaci eventualmente somministrati nell'allevamento di provenienza e ad adattare gli animali alla nuova collocazione. La sua durata è abitualmente fissata in 7 giorni, ma particolari situazioni possono determinarne un allungamento (ad esempio, uno stress da trasporto durante la stagione calda o un eventuale trattamento farmacologico effettuato nell'allevamento di provenienza). Nel coniglio il periodo di acclimatamento è particolarmente critico per la suscettibilità di questa specie alle patologie più diverse; in questo caso, perciò, tale periodo potrà essere di durata più limitata ma comunque non inferiore ai 5 giorni.

2. Prodotto e trattamento.

In generale deve essere garantita la tracciabilità di tutte le operazioni effettuate durante la sperimentazione e soprattutto quelle relative alla determinazione e alla somministrazione della dose preconizzata. Tutte le operazioni effettuate (come la determinazione del peso vivo, i dettagli descrittivi della formulazione farmaceutica, le modalità di preparazione della dose da somministrare, l'utilizzo delle attrezzature, i controlli e le verifiche effettuati) devono essere condotte sulla base di scelte adeguatamente motivate nel protocollo sperimentale e comunque documentate nel rapporto finale, con lo scopo di permettere un

preciso confronto tra la dose preconizzata e quella effettivamente assunta dagli animali in esperimento.

2.1. Prodotto.

La Ditta che richiede la prova (committente) deve fornire al centro di saggio un numero di confezioni di prodotto sufficienti ad eseguire i trattamenti. Deve fornire inoltre il Certificato di Analisi del prodotto oggetto della prova e possibilmente anche della materia prima (principio/i attivo/i). Almeno una confezione, integra e sigillata, deve essere conservata presso il Centro di saggio per 12 mesi dopo la data di scadenza.

2.2. Trattamenti individuali.

Si tratta in genere di trattamenti intramuscolari. E' importante che il punto in cui viene fatta ogni iniezione sia contrassegnato in modo indelebile affinché possa essere identificato al momento del prelievo. Volumi elevati di soluzione possono essere frazionati e iniettati in più punti; in caso di ripetizione del trattamento si esegue l'iniezione in punti diversi. Anche per la somministrazione sottocutanea deve essere contrassegnato in modo indelebile il sito di inoculo perché si possa in seguito prelevare il muscolo sottostante. I punti d'inoculo dovranno essere quelli abitualmente adottati nella pratica medico veterinaria per la specie animale oggetto della sperimentazione.

2.3. Trattamenti di gruppo.

Sono i più frequenti e simulano i trattamenti di massa. In questo caso, anche se gli animali sono marcati singolarmente, il calcolo e il controllo del dosaggio non sono individuali ma rappresentati da valori medi del gruppo. Di ogni gruppo devono essere determinati il consumo di acqua e/o di mangime almeno una volta al giorno per tutta la durata del trattamento, in modo da poter calcolare la dose di farmaco effettivamente assunta.

2.3.1. Somministrazione col mangime.

La quantità di mangime medicato con la premiscela oggetto dello studio viene preparata o dalla Ditta committente o da un mangimificio autorizzato e deve essere corredata da certificato di analisi del titolo del/i principio/i attivo/i.

2.3.2. Somministrazione in acqua di abbeverata o nel mangime liquido.

La modalità di somministrazione deve riproporre quanto più possibile le condizioni di allevamento, oltre a riprodurre la situazione più «sfavorevole» alla deplezione del residuo. In questa ottica è preferibile evitare di somministrare la dose in poca acqua ad animali assetati, ma viceversa lasciare a disposizione l'acqua medicata ad libitum.

L'acqua medicata deve essere rinnovata di volta in volta ed i residui di acqua medicata non consumati devono essere misurati (per poter calcolare la dose effettivamente assunta) ed eliminati.

3. Prelievi.

3.1. Punti di macellazione o di prelievo.

I punti di macellazione devono essere previsti in modo che il tempo di sospensione non debba essere ottenuto per estrapolazione, ma con una valutazione statistica basata su un'analisi di regressione. Quindi, bisogna prevedere almeno 3-5 punti, di cui uno rappresentato da un controllo positivo, cioè da un gruppo macellato subito dopo l'ultimo trattamento o comunque entro le 24 ore da questo. E' molto importante che sia previsto anche un gruppo di controllo negativo,

ossia un gruppo costituito da animali trattati (relativamente a stabulazione, alimentazione, ecc.) come gli altri animali oggetto della prova sperimentale ma che, a differenza di questi, non vengano sottoposti a trattamento con il farmaco in studio. Il gruppo di animali controllo negativi deve essere macellato allo stesso tempo del gruppo di controllo positivo.

Per le uova i punti di prelievo devono tenere conto della fisiologia della produzione dell'uovo, in particolare del tempo necessario alla produzione dell'albume e del tuorlo che potrebbero determinare errori di valutazione se i prelievi non vengono protratti per un tempo adeguato.

3.2. Tessuti edibili e altri prodotti.

Per la deplezione negli animali da carne si devono effettuare prelievi dei tessuti marker muscolo, fegato, rene e grasso. Nel caso della specie suina e del pollo da carne (e quindi anche delle altre specie aviarie) il grasso e' sostituito da pelle e grasso in proporzioni naturali. Questa espressione fornisce indicazioni molto sommarie, e in particolare omette di specificare se il grasso debba essere quello sottocutaneo o quello viscerale o entrambi. Inoltre le proporzioni tra cute e grasso variano moltissimo sia in funzione dell'eta' e dello sviluppo dell'animale, sia della sede anatomica in cui viene eseguito il prelievo. La presenza della frazione di grasso e' molto importante, soprattutto nel caso di composti liposolubili, quindi le «proporzioni naturali» devono fare riferimento ad uno standard stabilito dal Centro di saggio che consenta di ottenere un campione in cui sono effettivamente rappresentati sia la cute che il grasso. Nel pollo da carne (broiler) deve essere evitata la cute della regione sovrasternale per la possibile presenza di lesioni dovute al decubito sternale, mentre e' preferibile la zona interscapolare.

Nel caso del fegato per organi molto grandi occorre prevedere un prelievo che interessi una sezione ampia dell'organo, piu' rappresentativa di un prelievo eseguito ad esempio all'apice di un lobo.

Nel pesce devono essere analizzati muscolo e pelle in proporzioni naturali, li' prelievo si puo' effettuare nella zona retrobranchiale raccogliendo entrambe le componenti.

Gli altri prodotti sono rappresentati da latte, uova e miele.

Per l'uovo occorre analizzare tutto l'uovo, cioe' tuorlo e albume insieme, dal momento che il Limite Massimo di Residui e' fissato per l'uovo in toto.

3.3. Modalita' di prelievo.

I quantitativi indicativi dei diversi tessuti e prodotti da prelevare (in grammi o ml) sono schematizzati nella seguente tabella:

Mammi feri	Vola tili	Pe sci	Al pi
Muscoli (a) 300	Muscolo + 100	cuti	20 Miele 50
Grasso (b) 50	Grasso + 50	cuti	
Fegato (c) 300	Fegato	tutto	

Rene |entrambi|Rene |entrambi| | | |

(a) in caso di somministrazione Intramuscolare occorre aggiungere il prelievo del muscolo in corrispondenza del sito o dei siti di iniezione.

(b) nel caso del maiale il prelievo e' di grasso + cute in proporzioni naturali: vedi punto 3.2.

(c) per animali di piccola taglia si preleva tutto l'organo.

Il prelievo deve essere eseguito immediatamente dopo la macellazione e il campione congelato al piu' presto possibile ed eventualmente trasportato in seguito al Laboratorio senza interrompere la catena del freddo. Il campione viene scongelato nel Laboratorio per poterlo omogeneizzare e suddividere in almeno due aliquote, una da utilizzare per le analisi e una come campione di riserva. Entrambe vengono ricongelate fino al momento delle determinazioni analitiche.

Il miele viene prelevato dal melario in modo sparso su almeno 5 telaini diversi.

3.4. Conservazione dei campioni biologici.

I campioni di materiale biologico devono essere conservati dal Centro di Saggio fino al momento dell'emissione del rapporto sulla prova eseguita, dopodiche' possono essere distrutti previa autorizzazione della Ditta committente.

4. Metodica.

Il metodo di analisi utilizzato deve essere descritto in dettaglio, deve essere convalidato e deve essere in grado di identificare il/i residuo/i marker indicato/i in Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea secondo i criteri di:

- specificita';
- linearita';
- precisione;
- limite di rivelazione (LOD);
- limite di quantificazione (LOQ).

Il limite di quantificazione deve normalmente essere pari ad almeno la meta' del LMR definito in sede comunitaria (Position Paper EMEA/CVMP/247/96-FINAL).

Analisi dei risultati.

I risultati dello studio di deplezione residuale di un medicinale veterinario sono utilizzati per definire un tempo di sospensione adeguato affinche' i prodotti di origine animale non contengano residui superiori ai limiti consentiti. In pratica si deve utilizzare una sequenza di dati ottenuti in un campione per prevedere il comportamento di una popolazione. E' preferibile utilizzare pertanto un approccio statistico, che garantisca un buon risultato di questa estrapolazione. Di questo approccio bisogna essere gia' consapevoli all'atto della stesura del protocollo, nonche' dell'esecuzione della prova, soprattutto per quanto riguarda la numerosita' degli animali per gruppo e dei punti di prelievo.

Per calcolare il tempo di sospensione i risultati della prova sperimentale devono essere elaborati secondo quanto previsto dalle linee guida europee, utilizzando i seguenti software reperibili su <http://www.emea.eu.int/index/indexv1.htm>:

EMA/CVMP/563/02 Updated Application Software relating to Note for Guidance on Approach towards Harmonisation of Withdrawal Periods

for Meat;

EMA/CVMP/231/00 Rev. 1 Updated Application Software relating to Note for Guidance for the Determination of Withdrawal Periods for Milk.

Nel caso non sia possibile effettuare un'analisi statistica soddisfacente si ricorda che il tempo di sospensione verrà definito considerando il tempo di sacrificio in cui i residui rintracciati sono inferiori al valore di MRL in tutti i tessuti o campioni analizzati e maggiorando questo tempo del 10-30%, come indicato nel documento EMA/CVMP/036/95 Final «Approach towards harmonisation of withdrawal periods».

Allegato 3

TEMPI DI SOSPENSIONE CAUTELATIVI

CARNI:

Tempi di sospensione autorizzati Tempi di sospensione cautelativi	
0-5 giorni -> +5	(Es. 3 + 5 = 8)
6-14 giorni -> raddoppio	(Es. 11 + 11 = 22)
Oltre 14 giorni -> +14	(Es. 30 + 14 = 44)

LATTE, CARNI AVICOLE, CONIGLI, UOVA E MIELE:

Tempi di sospensione autorizzati Tempi di sospensione cautelativi	
0-6 giorni -> +3	(Es. 3 + 5 = 8)
7-8 giorni -> +4	(Es. 7 + 4 = 11)
9-10 giorni -> +5	(Es. 9 + 5 = 14)
11-12 giorni -> +6	(Es. 12 + 6 = 18)
Oltre 12 giorni -> +7	(Es. 16 + 7 = 23)