

PROGETTO LIFE UNDER GRIFFON WINGS – LIFE14/NAT/IT/000484

**AZIONE A.3 – I FARMACI VETERINARI TOSSICI PER GLI UCCELLI NECROFAGI:
LORO UTILIZZO IN SARDEGNA E MISURE DI MITIGAZIONE PREVISTE
NELL'AMBITO DEL PROGETTO LIFE UNDER GRIFFON WINGS**



Anno 2016

A cura di:

Dott.ssa Fiammetta Berlinguer, Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Sassari

Dott. Antonio Pintore, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna "G. Pegreffì"

Dott.ssa Giannina Chessa, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna "G. Pegreffì"

Dott.ssa Cecilia Testa, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna "G. Pegreffì"

Dott.ssa Simonetta Cherchi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna "G. Pegreffì"

Dott. Gian Nicola Frongia, Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Sassari

PREMESSA

L'utilizzo in medicina veterinaria di farmaci anti-infiammatori non steroidei, quali il diclofenac, ha portato in Sud Asia al collasso delle popolazioni delle tre specie di vulturidi presenti (genere *Gyps*) fino al più severo rischio di estinzione. Gli avvoltoi che si alimentano su carcasse di animali che erano stati recentemente trattati con il diclofenac muoiono entro pochi giorni per insufficienza renale (Naidoo et al. 2009). In seguito al declino del 99% della popolazione di vulturidi a causa dell'utilizzo di questo farmaco in campo zootecnico, nel 2006 l'India, il Nepal, il Pakistan ed il Bangladesh hanno proibito la commercializzazione e l'utilizzo di farmaci veterinari aventi come principio attivo il diclofenac. Recentemente (ottobre 2015), anche il Ministero dell'Ambiente iraniano ha annunciato di aver bandito l'utilizzo in campo veterinario del diclofenac ed anche la sua produzione. Il diclofenac non era commercializzato in Iran, e grazie a questo provvedimento non lo sarà neanche in futuro. Questa decisione è stata presa nel contesto della firma del "Memorandum of Understanding on the Conservation of Migratory Birds of Prey in Africa and Eurasia" avvenuta nel Marzo 2015, un annesso della Convenzione sulla specie migratorie.

La posizione europea al riguardo risulta in controtendenza, considerando che nonostante le chiare evidenze scientifiche che dimostrano inconfutabilmente l'elevata tossicità del diclofenac per i vulturidi, è stata permessa la commercializzazione di farmaci ad uso veterinario con questo principio attivo in 5 paesi Europei, tra i quali è inclusa l'Italia (specie di destinazione bovini, suini ed equini). Gli altri paesi sono l'Estonia, la Spagna (specie di destinazione bovini, suini ed equini), la Repubblica Ceca e la Lettonia (specie di destinazione equini). Il detentore dell'autorizzazione per il marketing di questi farmaci è la Fatro S.p.A, con l'eccezione della Spagna nella quale è la Fatrolbérica S.L.

Molte organizzazioni per la conservazione delle specie, tra le quali BirdLife International, Vulture Conservation Foundation, SEO, Lipu, RSPB, stanno portando avanti una campagna per sensibilizzare la Commissione Europea e bandire i farmaci veterinari a base di diclofenac. La petizione può essere firmata a questo link: <https://www.change.org/p/ms-silvana-dal-magro-diclofenac-the-vulture-killing-drug-is-now-available-on-eu-market-ban-it-now> ha già raccolto 38.943 sostenitori.

Grazie alla campagna di sensibilizzazione, il 12 agosto 2014 la Commissione Europea ha inviato alla European Medicines Agency (EMA) la richiesta di un parere da parte del Comitato per l'utilizzo dei farmaci veterinari (Committee for Medicinal Products for Veterinary Use - CVMP) sul rischio per gli uccelli necrofagi legato all'uso di farmaci veterinari contenenti diclofenac, in accordo con l'articolo 30(3) del Regolamento (EC) No 726/2004.

Il parere tecnico dell'EMA, pubblicato l'11 dicembre 2014 (procedura n. EMEA/V/A/107), conferma che l'utilizzo del diclofenac rappresenta un rischio reale per gli avvoltoi europei, e raccomanda, al fine di evitare l'avvelenamento dei vulturidi, di prendere una serie di misure per la gestione del rischio che includono controlli veterinari, l'inserimento di una dicitura nell'etichetta che informi dei suoi effetti sugli uccelli necrofagi, campagne informative, fino anche ad includere la possibilità di bandire i farmaci. L'elenco delle misure di mitigazione previste è riportato nell'allegato 1 (Diclofenac_CVMP_Summary_1412). Il punto cruciale che ha impedito di raccomandare direttamente il ritiro dei farmaci veterinari contenenti diclofenac dal mercato è stata la mancanza di uno studio che valuti la probabilità per gli uccelli necrofagi europei di alimentarsi su carcasse animali trattate da meno di 10 giorni con diclofenac. In altre parole, la decisione è stata limitata dal fatto che non esistono ancora prove dirette che dimostrino che nell'Unione Europea un avvoltoio è morto per aver ingerito carcasse di animali domestici contenenti concentrazioni tossiche di diclofenac.

La Commissione Europea ha quindi chiesto agli stati membri la stesura di piani d'azione per la mitigazione del rischio. L'Italia non ha ancora prodotto il suo piano d'azione. Recentemente un membro del Parlamento Europeo, Catherine Bearder (British MEP), ha dato inizio ad un'ulteriore petizione sul diclofenac e gli avvoltoi (http://www.bearder.eu/save_our_vultures_and_eagles).

Il caso diclofenac ha richiamato l'attenzione dei ricercatori sui rischi per gli uccelli necrofagi legati alla presenza di residui farmacologici nelle carcasse degli animali domestici. Gli studi effettuati hanno poi dimostrato che anche il ketoprofene è tossico per gli avvoltoi del genere *Gyps*, come pure il carprofene ed il flunixin meglumine (Naidoo et al., 2010; Cuthbert et al. 2006). Queste ricerche hanno ulteriormente sottolineato il potenziale impatto dei farmaci veterinari sulla salute degli uccelli necrofagi.

La tabella 1 mostra la lista dei farmaci ad uso veterinario per i quali sono stati ad oggi determinati gli effetti sugli uccelli necrofagi.

Tabella 1 - Elenco dei principi attivi per i quali sono stati ad oggi determinati gli effetti sugli uccelli necrofagi.

Principio attivo	Effetti sugli uccelli necrofagi	Letale	DL50	Bibliografia
Enrofloxacin; Ciprofloxacin;	Danneggiamento dello sviluppo embrionale; Danno a carico di fegato e reni; Immunodepressione; Alterazione della microflora	Potenzialmente letale.	ND	1; 3;4
Enrofloxacin; Ciprofloxacin;	Grave alterazione dello sviluppo osseo e cartilagineo dell'embrione;	Potenzialmente letale	ND	2
Marbofloxacin		Potenzialmente letale	ND	4
Diclofenac	Lesioni in reni, fegato e milza con un'estensiva deposizione di cristalli di acido urico	Si	0.1-0.2 mg/kg	6; 7; 8; 12; 13
Aceclofenac (precursore del Diclofenac)		Si		10
Ketoprofene	Nefro ed epatotossico	Si	ND	8; 12;
Flunixin meglumine	Potenzialmente tossico nelle esposizioni croniche	Si	ND	5; 11; 12
Carprofene	Potenzialmente tossico nelle esposizioni croniche	Si	ND	5; 11; 12;
Ibuprofene	Nefrotossico	Si	ND	11
Fenilbutazone	Potenzialmente tossico nelle esposizioni croniche; nefrotossico	Si	ND	5;9; 11;
Meloxicam	Nessuno	No (Sicuro)		8; 9; 12

In Sardegna i medicinali principalmente impiegati per uso zootecnico come antibiotici, antinfiammatori e antiparassitari vengono riportati per le 4 principali categorie di animali allevati in Sardegna nelle tabelle seguenti (2-5). I dati sono stati ottenuti in seguito ad interviste con veterinari ASL e liberi professionisti che lavorano in campo zootecnico (n=8), e con titolari di rivendite all'ingrosso di farmaci veterinari (n=2). Le prescrizioni veterinarie non vengono digitalizzate al momento da parte dei Servizi ASL veterinari, e di conseguenza la loro consultazione non è risultata praticamente possibile. D'altra parte, le interviste effettuate hanno permesso di raccogliere le informazioni necessarie al fine di decidere quali principi attivi includere negli accertamenti.

Tabella 2 - Medicinali principalmente impiegati in Sardegna nei bovini da carne e da latte. In rosso sono evidenziati i principi attivi per i quali è stato dimostrato un effetto tossico sugli uccelli necrofagi.

ANTIBIOTICI	ANTINFIAMMATORI	ANTIPARASSITARI
Penicillina G + procaina (procacillina®)	Desametasone Sodio Fosfato (rapison®)	Ivermectina + Closantel (closamectin®)
Penicillina + streptomina (penistrepto®)	Flunixinmeoglumina (finadyne®)	Abendazolo (Valbazen®)
Amoxicillina (clamoxy®) supramox®)	Ketoprofene (Rifen®, vet-ketofen®)	Ivermectina (ivomec®)
Enrofloxacin (Baytril®)	Meloxicam (Metacam®)	Doramectina (dectomax®)
Cefquinome (cobactan®)	Ac. Tolfenamico (Tolfedine®)	
Ceftiofur (Excenel®)	Carprofene (rimadil®)	Formosulfatiazolo (socatil®)
Sulfadiazina + Trimethoprim (trimethrosulfa®)		
Tilosina (Supratil®)		Toltrazuril (baycoxbovis®)
Ossitetraciclina (romicin®)		
Tularomicina (Draxxin®)		
Intramammary: Cefalexina (Rilexine®) Cefazolina (Cefovet®) Amoxicillina (synulox®)		

Tabella 3 - Medicinali principalmente impiegati in Sardegna negli ovicapri. In rosso sono evidenziati i principi attivi per i quali è stato dimostrato un effetto tossico sugli uccelli necrofagi.

ANTIBIOTICI	ANTINFIAMMATORI	ANTIPARASSITARI
Ossitetraciclina (romicin®, panterramicina®)	*Desametasone Sodio Fosfato (rapison®)	Abendazolo (Valbazen®)
Penicillina + streptomina (penistrepto®)	*Ketoprofene (Rifen®, vet-ketofen®)	Ivermectina (tolomec®)
Amoxicillina (clamoxy®)	*Flunixinmeoglumina (finadyne®)	Febendazolo (Panacur®, vermovin®)
Tilmicosina (Micotil®)	*Meloxicam (inflacam®)	Moxidectin (cydectin®)
Enrofloxacin (Baytril®)	*Carprofene (rymadil®)	Praziquantel (Neomansonil®)
Cefazolina (Cefovet®)		Doramectina (dectomax®)

*uso in deroga: Dir. 2004/28/CE e Reg. CE 470/2009 e Reg. 1950/2006/CE

Tabella 4 - Medicinali principalmente impiegati in Sardegna nei suini. In rosso sono evidenziati i principi attivi per i quali è stato dimostrato un effetto tossico sugli uccelli necrofagi.

ANTIBIOTICI	ANTINFIAMMATORI	ANTIPARASSITARI
Amoxicillina (clamoxy®), supramox®)	Desametasone Sodio Fosfato (rapison®)	Ivermectina (ivomec®)
Enrofloxacin (Baytril®)	Flunixinmeglumine (finadyne®)	
Ossitetraciclina (romicin®)	Ketoprofene (Rifen®, vet-ketofen®)	Formosulfatiazolo (socatil®)
Penicillina + streptomina (penistrepto®)	Meloxicam (Metacam®)	
Cefquinome (cobactan®)	Ac. Tolfenamico (Tolfedine®)	
Ceftiofur (Excenel®)		
Sulfadiazina + Trimethoprim (trimethrosulfa®)		
Tilosina (Supratil®)		
Tularomicina (Draxxin®)		

Tabella 5 - Medicinali principalmente impiegati in Sardegna negli equini. In rosso sono evidenziati i principi attivi per i quali è stato dimostrato un effetto tossico sugli uccelli necrofagi.

ANTIBIOTICI	ANTINFIAMMATORI	ANTIPARASSITARI
Penicillina + streptomina (penistrepto®)	Desametasone Sodio Fosfato (rapison®)	Moxidectina+praziquantel (Equestpramox®)
Trimetopim + sulfametossazolo (noxaprim®)	Flunixinmeglumina (finadyne®)	Ivermectina (equimax®)
Sulfadiazina + Trimethoprim (trimethrosulfa®)	Ketoprofene (Rifen®, vet- ketofen®)	Pirantel (Strongid®)
Sodioceftiofur (execenel®)	Meloxicam (Metacam®)	
Metronidazolo	Fenilbutazone (BUTE®)	
Enrofloxacin (Baytril®)	Buscopan (buscopanvet c.®)	
Ossitetraciclina (Engemicina®)		

Da quanto sopraelencato, emerge dunque anche in Sardegna il rischio di avvelenamento dei grifoni a causa del rifornimento dei carni aziendali con carcasse trattate con farmaci per loro tossici prima dell'esaurimento del tempo di sospensione specifico per ciascun principio attivo. Di seguito, si riporta l'elenco dei principi attivi tossici per gli avvoltoi, specificando il nome commerciale del farmaco, la specie di destinazione ed i tempi di sospensione.

Tabella 6 - Elenco dei principi attivi tossici per gli avvoltoi, nome commerciale del farmaco commercializzato in Italia che li contiene, specie di destinazione e tempi di sospensione.

Classe farmacologica	Principio attivo	Nome commerciale	Specie di destinazione	Tempo di sospensione
Antibiotici	Enrofloxacin	Baytril® 5% e Baytril® 10%	Bovini Caprini Ovini Suini Conigli	Bovino: 7 giorni IV; 9 giorni SC; ovino:4 gg; caprino:14 gg; suino:10 gg
		BaytrilMax®	Bovini	Bovini (carne): 14 gg
		Valemas®	Bovini Caprini Ovini e Suini	Bovini 7gg EV, 9gg SC, Caprino 14 gg; Ovini 4 gg e Suino 10 gg.
		FloxatrilMax®	Bovini	Carne: 14gg
		Gelliflox®	Bovini, suini	Bovini: 14 gg; Suini: 10 gg.
	Marbofloxacin	Marbokem®	Bovini	3 gg
		Marbocyl®	Bovini Suini	Bovini: 6gg; Scrofe: 4gg;
		MarbocylBolus®	Vitelli	6 gg
		Marbox®	Bovini Suini	Bovini: 3gg IM; 6gg SC; Scrofe IM 4ggg
		Aristos®	Bovini e Suini	Bovini: 6 gg; Scrofe: 4 gg;
Antinfiammatori non steroidei	Diclofenac	Reuflogin®	Bovini Suini Equini	Bovini: 6 gg; Scrofe: 4 gg; Bovini: 15gg; Scrofe: 12gg; Cavalli: 180gg;
	Ketoprofene	Rifen®	Bovini, suini e cavalli	Bovini, suini e cavalli: 4 gg
		Dinalgen Bovini®	Bovini	2 gg
		Dinalgen Suini®	Suini	1 giorno
		Dolovet OS polv. ®	Bovini	1 giorno
		Fin-dol 10%®	Bovini, Suini ed Equini.	Bovini: 4 gg; Suini ed Equini: 4 giorni.
		Vet-Ketofen® 10%	Bovini Suini ed Equini	4 giorni
Flunixin meglumine	Finadyne®		Bovini: 7gg; Scrofe: 7gg; Cavalli:18gg;	
	Alvios®	Bovini, suini ed equini	Bovini: 7 gg. Suini: 18 gg. Equini: 7 gg.	
	Flogend®	Bovini, cavalli, Suini	Bovini: 7 gg. Suini: 18 gg. Equini: 14 gg.	
	Flunamine®	Bovini e Cavalli	Bovini: 10 gg, Cavalli: 28 gg.	
	Flunifen®	Bovini, suini, equini.	Bovini, equini: 7 giorni. Suini: 18 gg.	

		Flunixin®	Bovini. Equini.	Bovini: 14gg, Cavalli: 28 gg.
		Meflosyl®	Suini, equini, bovini.	Bovini: 3 gg EV, 19 gg IM. Equini: 14 gg. Suini: 16 giorni.
		Niglumine®	Suini, equini, bovini.	Bovini: 4 gg; Equini, suini: 28 gg
	Carprofene	Rymadil® INIET FL 50ML®	Bovini	21gg
	Fenilbutazone	BUTE® BUTE GEL® FENILBUT. FL20%®	Equini ad uso sportivo	180gg
	Meloxicam	Metacam® 15mg/dl		Equini: 3gg;
		Metacam® 20mg/dl	Bovini, Suini ed Equini.	Bovini: 15 gg. Suini, equini: 5 giorni.
		Melovem®	Bovini e Suini	Bovini: 15 gg. Suini: 5 giorni.
		Meloxidyl®	Bovini, suini, equini.	Bovini: 15gg. Suini, equini: 5 giorni.

Misure per la mitigazione del rischio

I sottoprodotti di origine animale non destinati al consumo umano costituiscono una potenziale fonte di rischi per la salute pubblica e degli animali (paragrafo 1 del REGOLAMENTO (CE) n. 1069/2009). Partendo da questo presupposto è necessario che le stazioni di alimentazione tengano conto di questa prescrizione e assicurino (come specificato nella Sezione 2 allegato VI del regolamento 142/2011) il corretto impiego di materiali di categoria 1 per l'alimentazione di specie minacciate di estinzione o protette (reg. UE 142/2011 allegato VI, capo II, sez. 2, paragrafo1, lettera b). A tale proposito l'autorità competente deve essere convinta in base alla valutazione della situazione specifica della specie in questione e del loro habitat che lo stato di conservazione della specie sarà migliorato.

Nel corso del presente progetto verranno attivati 40 carnai aziendali per l'alimentazione della popolazione di grifoni. Oltre al divieto assoluto di collocare carcasse di animali sacrificati mediante eutanasia o deceduti durante un intervento chirurgico, così da scongiurare l'ingestione da parte dei grifoni di molecole e residui potenzialmente letali, sarà necessario prevedere delle misure di mitigazione del rischio di rifornimento dei carnai con carcasse animali trattate con quegli antibiotici e antiinfiammatori per loro dannosi prima della scadenza del tempo di sospensione per carni e visceri. A questo scopo, verranno sviluppate azioni di sensibilizzazione rivolte agli allevatori ed ai veterinari liberi professionisti e, d'accordo con i veterinari ASL, azioni di monitoraggio sulla gestione dei carnai aziendali.

In particolare, nell'ambito delle procedure per il rilascio dell'autorizzazione all'utilizzo di corpi interi o parti di corpi di animali morti contenenti materiale di cat. 1 come mangimi per uccelli necrofagi in aree trofiche aziendali, l'allevatore sottoscrive una richiesta impegnandosi, tra le altre cose, a non conferire corpi di animali che trattati di recente con antibiotici e antinfiammatori ne contengano i residui nella carne e nei visceri. Da parte sua, il servizio veterinario ASL nell'ambito dell'attività di farmacovigilanza, provvede ad effettuare controlli documentali mirati sull'utilizzo di alcune molecole farmacologiche tossiche per gli uccelli necrofagi, come il diclofenac, il flunixin meglumine, il ketoprofene e l'enrofloxacin.

A supporto di queste attività, nell'ambito del progetto LIFE Under Griffon Wings, e in concomitanza con i controlli in azienda successivi alla denuncia di morte di un animale, si provvederà in maniera random, ma

assicurando almeno tre campionamenti per azienda, a prelevare i campioni dalle carcasse per la determinazione dei residui farmacologici dei farmaci dannosi sopraelencati. Inoltre, le stesse analisi verranno effettuate sul sangue dei Griffoni ricoverati presso il Centro di Recupero e Allevamento della Fauna Selvatica di Bonassai (EFS) e sulle carni di eventuali avvoltoi rinvenuti morti nel corso del progetto (azione D4).

Il lavoro analitico sarà svolto dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna "G. Pegreffi", che ha un laboratorio attrezzato a questo scopo nell'ambito delle misure di farmacovigilanza comprese tra i suoi compiti istituzionali. L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna è accreditato dal 1999 (allora dal SINAL, attualmente da ACCREDIA). L'accreditamento ACCREDIA è concesso ai laboratori che risultano conformi ai requisiti della norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005. L'accreditamento attesta la competenza tecnica dei laboratori ad effettuare specifiche prove e l'attuazione di un Sistema di Gestione per la Qualità. Le prove per le quali ha ottenuto l'accreditamento riguardano sia il settore del controllo della salubrità degli alimenti, sia il settore della sanità animale, importanti per la certificazione dello stato sanitario degli allevamenti. Gli elenchi delle prove accreditate sono consultabili sul sito di ACCREDIA: www.accredia.it. Tutti i campioni sottoposti a prova vengono adeguatamente conservati sino all'effettuazione delle prove richieste e, ad eccezione di quelli soggetti a normativa specifica, sono eliminati secondo le disposizioni correnti relative alla gestione dei rifiuti (D.Lgs 152/2006). I Rapporti di Prova vengono conservati negli archivi dell'Ente per 10 anni, mentre le registrazioni a supporto del risultato di prova per 48 mesi.

Oltre a raccogliere informazioni che potranno un domani supportare successive campagne per bandire in Europa la commercializzazione di farmaci veterinari contenenti principi attivi tossici per gli avvoltoi, questa azione serve a minimizzare la probabilità che gli allevatori non rispettino le norme di corretto approvvigionamento del carnaio. Nel caso gli accertamenti ex post sulle carcasse dimostrino la presenza di residui farmacologici tossici per gli avvoltoi, d'accordo con i veterinari ASL, verrà ritirata l'autorizzazione per il carnaio.

La tabella 7 riporta le prove da eseguire, le modalità di conservazione dei campioni, la loro tipologia, e i tempi medi di risposta. Oltre agli antibiotici chinolonici e agli antinfiammatori non steroidei, le analisi includeranno anche uno screening per la presenza di antiparassitari benzimidazolici e avermectine, considerato il loro ampio utilizzo negli ovini, che rappresentano una significativa fonte alimentare per i griffoni. Per ampliare ulteriormente lo spettro e raccogliere il maggior numero possibile di informazioni sulla salubrità delle carcasse con le quali vengono riforniti i carnai aziendali, verrà inoltre effettuato uno screening ulteriore per ampliare lo spettro degli antibiotici ricercati, includendo i betalattamici (penicilline e cefalosporine) e le tetracicline.

Tabella 7 - Prove da eseguire presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna sui campioni prelevati dalle carcasse utilizzate per il rifornimento nei carnai aziendali, modalità di conservazione dei campioni, loro tipologia, e tempi medi di risposta

Prova	Espressione del risultato	Modalità di conservazione	di Tipo campione	Tempi medi di risposta
Determinazione di Antibiotici (beta lattamici, tetracicline, chinolonici) mediante LC MS(MI 6RF/95)	ug/kg	temperatura ambiente o refrigerato	Muscolo, o fegato	30 gg
Determinazione di Antinfiammatori Non Steroidei mediante HPLC (MI 6RF/85)	ug/kg	refrigerato o congelato	Siero, o plasma, o muscolo	30 gg
Determinazione di Antiparassitari Benzimidazolici e Avermectine mediante LC/MS (Riferimento interpretativo Reg.37/2010) (MI 6RF/51)	ug/kg	refrigerato o congelato	o fegato	30 gg

Riferimenti Bibliografici:

- 1) **Livestock Drugs and Disease: The Fatal combination behind Breeding Failure in Endangered Bearded Vultures.** Guillermo Blanco, Jesus A. Lemus. PLoS ONE 2010; 5(11): e14163. doi:10.1371/journal.pone.0014163
- 2) **Fatal embryo chondral damage associated with fluoroquinolones in eggs of threatened avian scavengers** J.A. Lemus, G. Blanco, B. Arroyo, F. Martinez, J. Grande. Environmental Pollution 2009; 157: 2421–2427.
- 3) **Antibiotics Threaten Wildlife: Circulating Quinolone Residues and Disease in Avian Scavengers.** Jesús Á. Lemus, Guillermo Blanco, Javier Grande, Bernardo Arroyo, Marino García-Montijano, Félix Martínez. PLoS ONE 2008; 3(1): e1444. doi:10.1371/journal.pone.0001444
- 4) **Wildlife contamination with fluoroquinolones from livestock: Widespread occurrence of enrofloxacin and marbofloxacin in vultures.** Blanco G, Junza A, Segarra D, Barbosa J, Barrón D. Chemosphere 2016; 144: 1536e1543
- 5) **The Safety and Pharmacokinetics of Carprofen, Flunixin and Phenylbutazone in the Cape Vulture (*Gyps coprotheres*) following Oral Exposure.** Fourie T, Cromarty D, Duncan N, Wolter K, Naidoo V. PLoS ONE 2015; 10(10): e0141419. doi:10.1371/journal.
- 6) **Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan.** Oaks JL, Gilbert M, Virani MZ, Watson RT, Meteyer CU, Rideout BA, Shivaprasad HL, Ahmed S, Chaudhry MJ, Arshad M, Mahmood S, Ali A, Khan AA. Nature. 2004 Feb 12;427(6975):630-3.
- 7) **Dropping dead: causes and consequences of vulture population declines worldwide.** Ogada DL¹, Keesing F, Virani MZ. Ann N Y Acad Sci. 2012 Feb;1249:57-71. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06293.x
- 8) **Toxicity of NSAIDs to Gyps vultures: a new threat from ketoprofen.** Vinny Naidoo, Kerri Wolter, Duncan Cromarty, Maria Diekmann, Neil Duncan, Andrew A. Meharg, Mark A. Taggart, Leon Venter and Richard Cuthbert. Biol Lett. 2010 Jun 23;6(3):339-41. doi:10.1098/rsbl.2009.0818
- 9) **Analysis of nine NSAIDs in ungulate tissues available to critically endangered vultures in India.** Aggart, M. A., Senacha, K., Green, R. E., Cuthbert, R., Jhala, Y., Rahmani, A., Meharg, A. A., Mateo, R. & Pain, D. J. Environ Sci Technol. 2009 Jun 15;43(12):4561-6.
- 10) **Aceclofenac as a Potential Threat to Critically Endangered Vultures in India: A Review.** Pradeep Sharma. Journal of Raptor Research, 46(3):314-318. 2012.
- 11) **NSAIDs and scavenging birds: potential impacts beyond Asia's critically endangered vultures 2007** Richard Cuthbert, Jemima Parry-Jones, Rhys E. Green and Deborah J. Pain. Biol. Lett. (2007) 3, 90–93 doi:10.1098/rsbl.2006.0554
- 12) **Avian scavengers and the threat from veterinary pharmaceuticals.** Richard J. Cuthbert, Mark A. Taggart³, Vibhu Prakash, Soumya S. Chakraborty, Parag Deori, Toby Galligan, Mandar Kulkarni, Sachin Ranade, Mohini Saini, Anil Kumar Sharma, Rohan Shringarpure and Rhys E. Green. Phil. Trans. R. Soc. B 369: 20130574.
- 13) **Apparent tolerance of turkey vultures (*Cathartes aura*) to the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac 2008** Barnett A. et al. DOI: 10.1897/08-123.1
- 14) **14) Diclofenac toxicity in Gyps vulture is associated with decreased uric acid excretion and not renal portal vasoconstriction.** Naidoo V, Swan GE. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2009 Apr;149(3):269-74. doi: 10.1016/j.cbpc.2008.07.014.