

# TOSSICITÀ PER L'UOMO E RUOLO NELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO

Emanuela Testai, Emma Di Consiglio

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Prima della sua immissione sul mercato nazionale, ciascun prodotto biocida (PB) deve sottostare ad un processo di autorizzazione da parte dello Stato Membro (SM) nel quale è richiesta la commercializzazione. Tale processo può avvenire solo per prodotti che contengono una o più sostanze attive, per le quali, a seguito della loro valutazione a livello comunitario sia stata decretata l'inclusione nell'Allegato 1 secondo la Direttiva 98/8/EC. Il singolo PB può essere autorizzato da uno SM solo se la valutazione del rischio conferma che nelle condizioni di uso il prodotto non presenta rischi inaccettabili per la salute umana. A tale scopo deve essere presentato un dossier per ogni specifica destinazione d'uso del PB: infatti diversi *product types* (PT) corrispondono a diversi scenari di esposizione, con conseguente diversa rilevanza per le varie vie di esposizione e valutazione del rischio. A seguito dell'autorizzazione del PB in uno SM, si può procedere al mutuo riconoscimento dello stesso PB da parte degli altri SM.

La valutazione del rischio per la salute umana è un passaggio indispensabile nel processo di autorizzazione di un PB. Come mostrato nella Figura 1, la procedura di Inclusione in Allegato 1 della/e sostanza/e attiva/e è il prerequisite indispensabile e imprescindibile, a seguito del quale viene avviata la valutazione del PB.

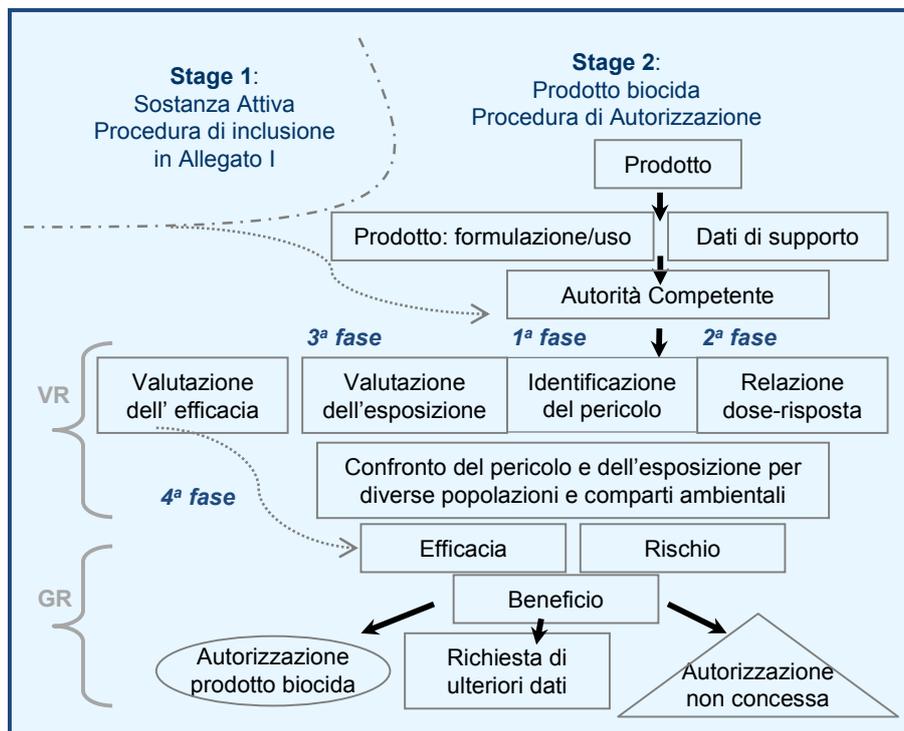


Figura 1. Procedura di autorizzazione di un prodotto biocida  
RA: Risk assessment; RM: Risk management

La valutazione del rischio tossicologico, secondo i principi internazionalmente accettati prevede 4 fasi: la prima fase o identificazione del pericolo (*hazard identification*), vale a dire le caratteristiche tossicologiche intrinseche del prodotto, attiene essenzialmente agli aspetti qualitativi; la seconda fase della valutazione, nella quale vengono presi in considerazione gli aspetti quantitativi, si occupa della relazione dose-risposta (*dose-response*), in base alla quale può essere individuata e/o estrapolata la concentrazione alla quale non si osserva l'effetto tossico. La terza fase riguarda la valutazione dell'esposizione della popolazione. Nella quarta fase, o caratterizzazione del rischio, le informazioni raccolte nelle fasi precedenti vengono integrate: i dati ottenuti dalla relazione dose-risposta vengono combinati con le informazioni sull'entità di esposizione per produrre una stima della probabilità (o rischio) di osservare l'effetto tossico.

Alle condizioni d'uso proposte il PB deve essere necessariamente efficace: non avrebbe infatti alcun senso immettere sul mercato un prodotto non efficace e in alcuni casi potrebbe risultare addirittura 'pericoloso', basti pensare alla azione 'disinfettante' di alcuni PB, la cui mancata efficacia esporrebbe i consumatori a rischi di tipo microbiologico. Se il prodotto è efficace e il rischio per la popolazione è accettabile, si può procedere alla sua autorizzazione; in caso contrario possono essere introdotte limitazioni d'uso o cambiamenti della formulazione per limitare l'esposizione, o adottare tutte quelle misure di gestione del rischio (*risk management*) che si ritengano necessarie in base a valutazioni di tipo rischio/beneficio, inclusa come *ultima ratio* la decisione in merito alla non autorizzazione del prodotto stesso. Ad esempio sulla base della pericolosità, nessun PB classificato come tossico o molto tossico o in categoria 1 e 2 per effetti genotossici, cancerogeni e per la riproduzione può essere autorizzato ad uso della popolazione generale.

Per valutare i rischi per la salute di un PB è necessario considerare gli effetti causati dalla formulazione e, nel caso in cui i dati non siano disponibili, dalla pericolosità intrinseca e dagli effetti tossici causati dalla/e sostanza/e attiva/e contenuta/e e da eventuali co-formulanti. Nella maggioranza dei casi, come indicato nella Direttiva, la pericolosità di un prodotto può essere determinata attraverso un'attenta valutazione dei singoli componenti (*careful consideration of the hazard data on the individual components*). L'attenta valutazione deriva da alcune considerazioni che si rendono necessarie: ad esempio, la pericolosità dei singoli componenti può non essere espressa dal formulato, se il loro contenuto è molto limitato; al contrario, nelle condizioni d'uso la concentrazione di alcuni componenti potrebbe anche aumentare, a causa della volatilità di alcuni solventi utilizzati come co-formulanti.

Tutto ciò è possibile assumendo che i vari componenti agiscano indipendentemente gli uni dagli altri, con bersagli diversi e meccanismi diversi: la formulazione è in questo caso assimilabile ad una miscela di composti chimici diversi e come tale va trattata. Esiste però anche la possibilità che più componenti abbiano lo stesso tipo di tossicità (*mode of action*) e/o lo stesso bersaglio con additività degli effetti. Sono, inoltre, possibili fenomeni di interazione (sinergismo o antagonismo), che possono per esempio portare ad una alterazione degli effetti attesi, dovuti a reazioni tra i vari componenti per formare altri composti chimici con azione diversa, o anche alla modifica di parametri tossicocinetici e della biodisponibilità di un componente. Ne è un classico esempio l'aumento dell'assorbimento cutaneo di una sostanza attiva dovuto a emulsionanti e solventi presenti in una formulazione rispetto ad un'altra. Al momento attuale non esiste un approccio consolidato per la valutazione del rischio delle miscele, per cui è fondamentale che il valutatore analizzi attentamente i dati disponibili e applichi la procedura più adatta alla singola formulazione (importanza dell'*expert judgement*).

Nella valutazione del rischio, gli effetti principali, da considerare dal punto di vista della salute umana e indicati come *core data* nell'Annex IIA della Direttiva 98/8 per la sostanza attiva, comprendono:

- a. tossicità acuta, ripetuta e cronica;
- b. corrosività e irritazione (occhi e pelle);
- c. sensibilizzazione cutanea;
- d. tossicocinetica;
- e. genotossicità (in vitro e in vivo) e cancerogenesi;
- f. tossicità riproduttiva e dello sviluppo.

Esistono poi dei dati aggiuntivi che possono essere richiesti in specifiche circostanze e generalmente dipendenti dal tipo di sostanza, dalla destinazione d'uso e/o da particolari pattern espositivi (es. studi di neurotossicità, studi di meccanismo di azione, vie di somministrazione diverse) e sono indicati per la sostanza attiva nell'Annex IIIA della Direttiva 98/8.

Come indicato nell'Annex IIB della Direttiva 98/8, per il PB generalmente sono richiesti come *core data* solo gli studi necessari all'identificazione della pericolosità (descritti nel Doc. III B del dossier). Per tutti gli altri *end-points* ci si riferisce alle caratteristiche della sostanza attiva per la quale, essendo inclusa in All.I, sono stati già identificati gli effetti tossici e i valori di riferimento adottati di concerto a livello comunitario. I dati ottenuti con studi sperimentali sul formulato sono considerati più rilevanti che qualsiasi altro risultato desumibile per calcolo, sulla base della composizione.

I dati richiesti sono inclusi nella Tabella 1, seguendo la numerazione specifica che appare nel format del dossier.

**Tabella 1. Studi richiesti come *core data* per il PB riguardanti la salute umana**

| Numerazione | Studio/ <i>endpoint</i>  |
|-------------|--|
| B 6.1.      | Tossicità acuta*   |
| 6.1.1       | Orale  |
| 6.1.2       | Dermale  |
| 6.1.3       | Inalatoria   |
| B 6.2.      | Irritazione dermale e oculare  |
| B 6.3.      | Sensibilizzazione cutanea  |
| B 6.4.      | Assorbimento dermale   |
| B 6.7       | Ulteriori studi relativi alla salute umana                                       |
| 6.7.1.1     | Residui  |
| 6.7.1.2     | Effetti di processi industriali e/o domestici sulla natura e quantità di residui |

\* Relativamente alla tossicità acuta devono essere testate almeno 2 vie, di cui una è l'orale. La scelta della seconda via di somministrazione dipende dalla natura del formulato e dalla via rilevante per l'esposizione umana. Gas e liquidi volatili devono essere sottoposti a test per la tossicità inalatoria.

Per ciascuno degli *end-point* elencati in Tabella 1 deve essere presentato almeno uno studio accettabile o una giustificazione per la non presentazione dello studio (*justification for non-submission of data*), che equivale ad una richiesta di deroga o *waiving*. La mancata conduzione/presentazione di uno studio non necessariamente corrisponde ad un *data gap*, purché siano fornite adeguate giustificazioni relative, per esempio, alla impossibilità tecnica di condurre uno studio (es. studi di tossicità cronica per rodenticidi ad azione anticoagulante) o all'esistenza di dati di letteratura o ottenuti con metodologie alternative, che danno indicazioni sufficienti per una valutazione adeguata. La conduzione dello studio, inoltre, potrebbe non essere necessaria e, per motivi legati al benessere animale, non eticamente accettabile, come ad esempio lo studio di irritazione oculare e/o lo studio di tossicità inalatoria per sostanze classificate come corrosive per la pelle. Inoltre si può dimostrare l'inutilità di alcuni test, come avviene spesso per lo studio di tossicità inalatoria sulla base delle caratteristiche chimico-fisiche (pressione di vapore, distribuzione delle particelle-MMAD per la respirabilità) del tipo di

formulazione e delle condizioni d'uso. È anche possibile chiedere di applicare il principio del *read across*, quando siano disponibili dati relativi a sostanze che abbiano caratteristiche strutturali e chimico fisiche-simili e siano contenute in formulazioni con composizione e caratteristiche comparabili. Se l'entità del *read across* è rilevante sono necessari dei *bridging studies* che lo supportino, a chiara dimostrazione della comparabilità del profilo tossicologico delle due sostanze. Le giustificazioni fornite devono essere adeguate e basate su argomentazioni di tipo scientifico; non è possibile accettare giustificazioni generiche (ad esempio non necessario, non tecnicamente possibile, in uso da tanto tempo senza segnalazione di effetti avversi) e/o di natura economica. Se lo studio e/o la giustificazione non sono accettabili, si configura un *data gap*, e la necessità di richiedere uno altro studio.

L'accettabilità di uno studio dipende fortemente dalla valutazione della qualità dei dati e dall'adeguatezza della informazione (che definisce la reale utilità del dato per lo scopo prefissato) basata sulla loro affidabilità (qualità intrinseca dello studio) e rilevanza (quanto lo studio sia adeguato ad identificare gli effetti della sostanza sulla base della rilevanza della specie, della via di esposizione, della durata, della sostanza test) secondo quanto stabilito da Klimisch (Klimisch *et al.*, 1997). Nella classificazione di Klimisch gli studi si classificano con numeri da 1 a 4, come indicato in Tabella 2.

**Tabella 2. Classificazione di Klimisch**

| Valore di Klimisch | Affidabilità                 | Commento   |
|--------------------|------------------------------|--|
| 1                  | Affidabile senza restrizioni | Lo studio è stato condotto secondo Linee Guida accettate internazionalmente, in Buona Pratica di Laboratorio, ha prodotto dati rilevanti e utilizzabili nel RA.  |
| 2                  | Affidabile con restrizioni   | Esistono alcune deviazioni rispetto ai precedenti, ma non tali da non poter considerare lo studio come key study e utilizzarlo nel RA.   |
| 3                  | Affidabilità molto limitata  | Le deviazioni sono tali da poter permettere di considerare lo studio solo come supporting o in casi rari (da giustificare) da usare nel RA.  |
| 4                  | Non valido per il RA         | Esempi tipici sono i dati di letteratura con reporting limitato (abstract, libri di testo), tali da non poter valutare la reale qualità del dato. Studi molto datati, che non riportano informazioni fondamentali o deviazioni molto significative rispetto agli standard richiesti ad oggi. |

Dati di letteratura o utilizzati da altre Agenzie Internazionali per la valutazione della sostanza attiva per diverse destinazioni d'uso risultano molto utili, sia per confronto che per andare verso l'armonizzazione delle valutazioni, e possono essere utilizzati come dati di supporto per un approccio definito come *Weight of Evidence* (WoE), che integra tutte le informazioni disponibili. Anche per i dati di letteratura in caso si intenda utilizzarli per coprire uno degli *end-point* previsti, deve essere preparato all'interno del Doc. IIIB del dossier un *robust summary* (e inseriti come dati consultabili nel Doc. IVB). Tra le ragioni a favore dell'accettazione di dati di letteratura (la cui qualità sia sufficiente) la limitazione dell'uso degli animali in test tossicologici è la principale; per contro, la loro accettazione è spesso limitata dallo scarso *reporting* (mancanza di informazioni su identità e purezza della sostanza test, o sul metodo utilizzato, spesso molto diverso dai metodi indicati nelle Linee Guida OCSE, scarsa descrizione dei risultati e assenza di certificazione di qualità).

La conduzione di studi su volontari umani è fortemente scoraggiata, ma quando dati epidemiologici di buona qualità siano già disponibili devono essere considerati. Per la valutazione della qualità dei dati sull'uomo è prevista una categorizzazione simile a quella

utilizzata per gli studi sugli animali. La qualità di uno studio epidemiologico dipende da: disegno dello studio, informazioni disponibili sul livello di esposizione, descrizione dei dati relativi agli effetti, possibilità di generalizzare le conclusioni, numero degli individui arruolati, presenza di sub-popolazioni, differenze nella via di esposizione e nella durata. Dati sull'uomo di buona qualità e rilevanti (*reliable and relevant*) hanno la precedenza su altri dati, ma la mancanza di risultati positivi sull'uomo (es. dati di irritazione/corrosione) non ha la precedenza rispetto a dati positivi di buona qualità ottenuti in studi su animali (*no overrule*).

Quando sono disponibili più studi per un singolo *end-point*, il peso maggiore si dà a quello con maggiore rilevanza e affidabilità. Per cui tra gli studi presentati è necessario definire quello/i considerato/i come studio chiave (*key study*: valido e in grado di fornire dati adeguati da utilizzare nella valutazione del rischio) o solo come studi a supporto (*supporting studies*). È possibile definire più di uno studio chiave per lo stesso *end-point* soprattutto se gli studi si riferiscono a risultati simili ottenuti sulla stessa specie, e generalmente a parità di qualità dello studio si sceglie quello che fornisce il NOEL (*No Observed Effect Level*) più basso, su specie diverse, se l'insieme di studi diversi costituisce un pacchetto in grado di suggerire il risultato finale (ciascuno sopperisce a piccole deficienze reciproche).

La caratterizzazione quantitativa del rischio per la salute umana si calcola comparando i livelli di esposizione identificati nei vari scenari relativi alle possibili condizioni d'uso del PB, con i valori di riferimento (valori senza effetto o NOAEL, *No Observed Adverse Effect Level*) identificati negli studi utili per l'identificazione della relazione dose-risposta, opportunamente corretti per i fattori di incertezza e variabilità.

La valutazione della esposizione deve coprire gli usi previsti del PB la produzione e lo smaltimento del PB e dei materiali trattati e quando necessario altri possibili scenari (come ad esempio l'ingestione accidentale da parte di bambini). La valutazione viene fatta per ciascun gruppo di popolazione potenzialmente esposto (popolazione generale, operatori professionali, gruppi a rischio) per le vie di esposizione rilevanti (orale, cutanea, inalatoria). Il livello di esposizione accettabile (AEL) deve essere calcolato per un periodo appropriato rispetto agli usi previsti. In questa ottica per esempio una esposizione cronica si configura come un periodo >3 mesi nell'arco di un anno.

Per l'identificazione dei valori di riferimento per la protezione della salute umana, per gli effetti con soglia si parte dalla derivazione di un NOAEL, la dose più alta a cui l'effetto non si osserva), o di un LOAEL (*Low Observed Adverse Effect Level*, la dose più bassa a cui l'effetto è presente), relativo all'effetto critico nella specie più appropriata e più sensibile, per la durata e attraverso la via di esposizione più simili alle reali condizioni d'uso: questi dati si riferiscono alla sostanza attiva, perché studi di tossicità ripetuta non sono generalmente disponibili per il formulato.

L'effetto critico può essere tale perché ha una maggiore rilevanza dal punto di vista tossicologico (es. necrosi epatica rispetto a piloerezione) o perché a parità di rilevanza si manifesta alle dosi più basse (Figura 2). Per l'identificazione dell'effetto critico è importante dare la giusta interpretazione all'insieme dei dati disponibili relativi alla dose-dipendenza, alla progressione del danno (aumento delle transaminasi epatiche con successiva ipertrofia epatocellulare o necrosi), alla presenza degli effetti in un numero elevato/limitato di animali per gruppo/sexo e infine alla coerenza del quadro tossicologico generale. Si tratta quindi di una valutazione critica del dato, utilizzando al meglio le conoscenze, e non di un'applicazione regole rigide in modo acritico e automatico. L'importanza di identificare l'effetto critico è data dal fatto che la sua prevenzione determina automaticamente la prevenzione di tutti gli altri effetti possibili.

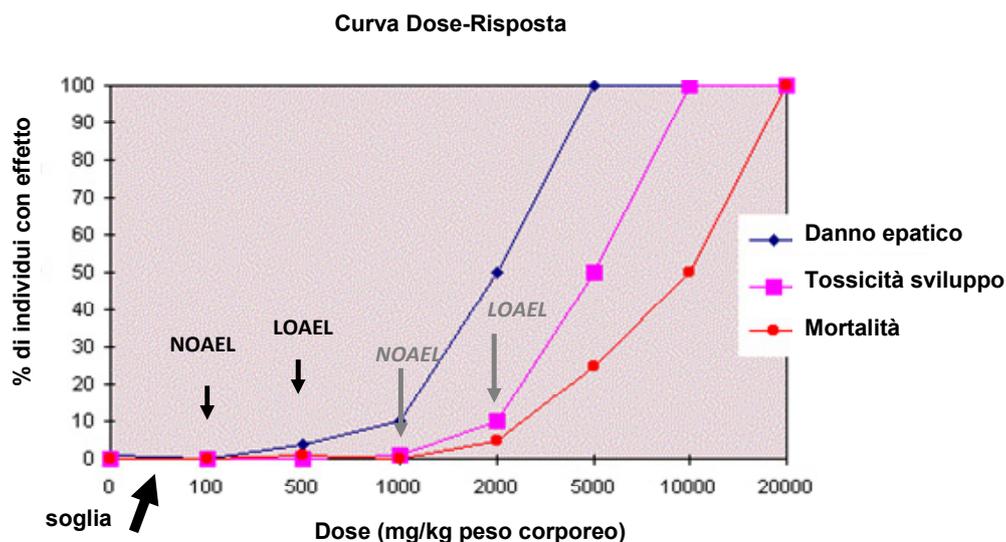


Figura 2. Individuazione dell'effetto critico

Nella valutazione complessiva è necessario tenere conto sia di possibili fonti di incertezza che di fattori di variabilità. I primi considerano essenzialmente la qualità del dato sperimentale, l'adeguatezza e vicinanza della specie animale testata per l'estrapolazione dei dati all'uomo (possibili differenze di specie), l'estrapolazione dei dati sperimentali ottenuti con dosi elevate alle dosi reali di esposizione umana generalmente basse e la durata dello studio. Le principali cause di variabilità degli effetti associati ad una sostanza riscontrabili nella popolazione dipendono, invece, dalla durata, dal livello e dalla via di esposizione che possono rendere un gruppo di popolazione più suscettibile perché più esposto degli altri (es. gli operatori professionali); ma la variabilità può essere anche, a parità di esposizione, associata ad una diversa suscettibilità di uno specifico gruppo di popolazione dovuta a età, stati pato-fisiologici, fattori genetici e/o acquisiti. È quindi importante identificare sia la popolazione maggiormente esposta che quella più suscettibile (se presente), perché la protezione di quest'ultima, assicura automaticamente la protezione del resto della popolazione generale.

Per tenere conto di variabilità e incertezza durante il processo di valutazione del rischio per la derivazione del DNEL (*Derived No Effect Levels*, livello di esposizione al di sotto del quale si assume che gli effetti avversi abbiano una probabilità tendente a zero di manifestarsi nelle popolazioni esposte) al NOAEL (o se non disponibile al LOAEL) si applicano degli *Assessment Factors* (AF), che un tempo venivano indicati come fattori di sicurezza, perché generalmente derivati applicando approcci conservativi.

La scelta degli AF dipende dalla valutazione complessiva e deve essere giustificata, scientificamente solida e trasparente (*expert judgement*). I valori di default sono valori arbitrari derivati da considerazioni generalmente conservative: è necessario considerare i dati sperimentali, ogniqualvolta se ne disponga. Ad esempio nell'estrapolazione dei dati sperimentali ottenuti su animali all'uomo, quest'ultimo è considerato a priori 10 volte più suscettibile: se sono disponibili dati sperimentali che dimostrano che le differenze di specie sono limitate e/o che l'uomo è meno sensibile della specie utilizzata, non è necessario utilizzare il relativo AF.

$$\text{DNEL} = \frac{\text{N(L)OAEL}}{\text{AF}_{\text{inter}} * \text{AF}_{\text{intra}} * \text{AF}_{\text{expdur}} * \text{AF}_{\text{exppt}} * \text{AF}_{\text{dose-resp}}}$$

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| $\text{AF}_{\text{inter}}$     | = differenze tra specie (estrapolazione animali/uomo)    |
| $\text{AF}_{\text{intra}}$     | = differenze intraspecifiche                             |
| $\text{AF}_{\text{expdur}}$    | = durata della esposizione                               |
| $\text{AF}_{\text{exppt}}$     | = via di esposizione                                     |
| $\text{AF}_{\text{dose-resp}}$ | = incertezze su gravità degli effetti e qualità dei dati |

Quando i dati suggeriscono che un effetto evidenziato nella sperimentazione animale possa essere specie-specifico, ossia che gli effetti visti nella specie testata hanno una scarsa possibilità di manifestarsi in altre specie, specialmente nell'uomo, è necessario che siano presentate evidenze documentate e scientificamente valide per concludere che l'effetto non è effettivamente rilevante per l'uomo. Esempi di effetti specie-specifici includono la nefropatia indotta nel ratto maschio per la presenza della proteina specie specifica  $\alpha_2\mu$ , non rilevante per la specie umana; la cancerogenesi epatica indotta con meccanismo legato alla proliferazione dei perossisomi, tipica dei roditori il cui meccanismo inizia dal legame con il recettore PPAR $\alpha$ , espresso nell'uomo a livelli trascurabili; i tumori tiroidei dovuti dalla induzione della glucuroniltrasferasi, che nell'uomo ha rilevanza limitata.

Quando i dati relativi ad una via di esposizione rilevante non sono disponibili, è possibile applicare una *route to route extrapolation*. In questo caso però è necessario disporre delle opportune conoscenze tossicocinetiche (% di assorbimento, biodisponibilità, potenziale di bioaccumulo) necessarie a determinare la reale dose interna, senza le quali anche l'uso di fattori di *default* non condurrebbe ad una solida valutazione su base scientifica.

Per esemplificare una possibile valutazione, consideriamo il caso di un ipotetico PB, appartenente alla categoria PT14 (rodenticida) formulato come un esca solida, appetibile per gli organismi bersaglio, contenente 0,005% w/w di sostanza attiva. I co-formulanti e gli altri componenti sono sostanze tossicologicamente inerti e non rilevanti. Come riportato in Tabella 3, nel pacchetto dei *core data*, solo gli studi relativi alla irritazione cutanea e oculare sono stati condotti con il formulato, nondimeno la situazione può essere ritenuta accettabile, non si configurano data-gap e non c'è necessità di richiedere la conduzione di ulteriori studi, perché sono presentati studi con richiesta di *read across* e/o adeguate giustificazioni.

**Tabella 3. Esempio di valutazione del rischio per la salute umana di un PB prototipo: studi inviati come core data**

| Numerazione        | Studio/end-point   | Dati/Giustificazione   | Conclusioni  |
|--------------------|--|--|--|
| B 6.1.             | Tossicità acuta  |  |  |
| 6.1.1. e<br>6.1.2. | Orale e Cutanea  | È richiesto il <i>read across</i> rispetto a studi condotti con un formulato del tutto simile a quello per cui si richiede l'autorizzazione, nella composizione: la differenza è che si presenta in forma di pasta anziché di blocchetto.      | Non essendo ipotizzabile una differenza di profilo tossicologico tra i due prodotti il <i>read across</i> e quindi gli studi presentati sono considerati validi e accettabili. |
| 6.1.3.             | Inalatoria   | È richiesto il <i>waiving</i> a causa della caratteristiche chimico- fisiche della sostanza attiva, del tipo di formulazione e delle condizioni d'uso che non prevedono che possa verificarsi alcuna esposizione attraverso la via inalatoria. | Giustificazione accettata.   |
| B 6.2.             | Irritazione cutanea e oculare  | Sono presentati studi specifici sul formulato.   | Gli studi sono considerati validi e accettabili.   |
| B 6.3.             | Sensibilizzazione cutanea  | Stessa richiesta di <i>read across</i> descritta per la tossicità orale e cutanea.   | Richiesta e studio ritenuti validi e accettabili.  |
| B 6.4.             | Assorbimento cutaneo   | Sono disponibili dati già presentati su un formulato del tutto simile (blocchetto di cera, contenente la stessa quantità di sostanza attiva) nel dossier presentato per l'inclusione in All. I della sostanza attiva.                          | Studio ritenuto valido e accettabile.  |
| B 6.7              | Ulteriori studi relativi alla salute umana.  | }  | Studi non necessari per lo specifico PT.   |
| 7.1.1 e<br>7.1.2   | Residui in cibi di origine. Effetti di processi industriali e/o domestici che possono modificare la natura e l'entità dei residui. |  |  |

I dati relativi agli studi elencati in Tabella 3 relativi all'*hazard* possono essere utilizzati per la classificazione e l'etichettatura del prodotto. Per la valutazione del rischio invece è necessario rifarsi ai dati presentati e valutati nel *Chemical Safety Assessment* (CAR) della sostanza attiva per la definizione del valore di riferimento. Nel caso specifico è stato considerato il LOAEL di 0.001 mg/kg/day per la tossicità materna nello studio di teratogenesi nel coniglio, in quanto gli effetti di tossicità riproduttiva, identificati come effetti critici, erano osservabili anche alla dose più bassa testata (per cui non è stato possibile derivare un NOAEL). Come AF viene applicato un fattore 10 per la variabilità inter-specifica; 10 per la variabilità intra-specifica (o inter-individuale); 3 per la gravità degli effetti indotti (lo stesso fattore è stato utilizzato a livello comunitario per tutti i rodenticidi con meccanismo di azione warfarina-simile) e un ulteriore fattore 2 che tenga conto del fatto che è stato preso in considerazione un LOAEL anziché un NOAEL (con curva dose-risposta piuttosto ripida). Il dato è stato ulteriormente corretto per la percentuale di assorbimento per via orale (68% per una singola dose di 0,1 mg/kg peso corporeo). Tale correzione viene generalmente applicata quando l'assorbimento è inferiore al 75-80%.

Il risultato indica un AEL = 0,0000011 mg/kg/day da utilizzare nella caratterizzazione del rischio. Come indicato nel CAR per questa specifica sostanza attiva, e per le sue caratteristiche

tossicologiche questo AEL è usato sia per scenari di esposizione cronica che acuta. Il valore di tossicità materna in studi di riproduzione può essere usato come valore di riferimento per la derivazione di un AEL acuto e/o a breve termine; in questo caso specifico, in assenza di un valore di tossicità cronica (per impossibilità tecnica di condurre questo tipo di studi con un rodenticida ad attività anticoagulante) ed essendo gli effetti sulla riproduzione considerati l'*end-point* critico, lo stesso valore è utilizzato per i vari scenari. Per altre sostanze attive, la derivazione dell'AEL acuto parte dai dati di NOAEL provenienti da studi a breve termine (es. ripetuta a 14/28 gg; tossicità materna in studi di tossicità riproduttiva-7gg): è molto difficile infatti disporre di un NOAEL acuto, a causa della più recente metodologia di conduzione degli studi di tossicità acuta, che identifica un intervallo di dosi in cui è compresa la LD<sub>50</sub> e non una dose senza effetto. Come regola generale l'AEL non può mai essere calcolato dal valore di LD<sub>50</sub>, che esprime un effetto grave (il decesso) su un numero elevato di animali (50%), e in questo caso anche l'applicazione di diversi fattori di incertezza non garantisce il livello di sicurezza necessario.

La valutazione quantitativa del rischio viene condotta in prima istanza assumendo che non siano utilizzati dispositivi di protezione individuale (DPI). In presenza di rischio identificato, è necessario procedere ad un *refinement* della valutazione, inserendo l'uso di DPI, se non possono essere messe in atto altre misure di mitigazione del rischio (es. modifica della composizione e/o del tipo di formulazione). Se per ridurre il rischio a livelli accettabili l'uso di DPI si rende strettamente necessario, il prodotto viene autorizzato solo per utilizzatori professionali.

## Bibliografia di riferimento

- EFSA Panel on Pesticides. Scientific Opinion on risk assessment for a selected group of pesticides from the triazole group to test possible methodologies to assess cumulative effects from exposure throughout food from these pesticides on human health on request of EFSA. *EFSA Journal* 2009;7(9):1167.
- Europa. Direttiva 98/8/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 16 febbraio 1998 relativa all'immissione sul mercato dei biocidi. *Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee* n. L 123 del 24 aprile 1998. Disponibile all'indirizzo: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1998:123:0001:0063:IT:PDF>; ultima consultazione 29/04/2011.
- Italia. Decreto Legislativo 25 febbraio 2000, n. 174 recante "Attuazione della Direttiva 98/8/CE in materia di immissione sul mercato di biocidi". *Gazzetta Ufficiale - Supplemento ordinario* n. 149 del 28 giugno 2000.
- Klimisch HJ, Andreae M, Tillmann U. A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. *Regul Toxicol Pharmacol* 1997;25:1-5.
- Kortenkamp A. *et al. State of the Art of Mixture Toxicity* Final report of study contract 070307/2007/485103/ETU/D.1. 2009. Disponibile all'indirizzo: [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/pdf/report\\_Mixture%20toxicity.pdf](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/pdf/report_Mixture%20toxicity.pdf); ultima consultazione 24/05/2011.