

# VALUTAZIONE DEL RISCHIO PER LA TUTELA DELLA SALUTE UMANA IN CONFORMITÀ CON LA NUOVA NORMATIVA EUROPEA SUI PRODOTTI BIOCIDI

Emma Di Consiglio, Emanuela Testai

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

## Introduzione

Con l'applicazione del nuovo Regolamento (UE) n. 528/2012 (1), relativo alla immissione sul mercato dei prodotti biocidi, l'Unione Europea (UE) individua delle norme chiare e dettagliate in materia, stabilendo un *continuum* con il passato, ma al tempo stesso apportando modifiche sostanziali alla Direttiva 98/8/CE (2), nell'ottica di aumentare la protezione della salute umana. È noto infatti che, sebbene i biocidi siano necessari per il controllo di organismi in grado di indurre effetti indesiderati per la salute umana o animale, essi stessi possono essere fonte di rischio per la salute dell'uomo, a causa delle loro proprietà tossicologiche intrinseche, ma anche in relazione ai loro usi e ai vari scenari di esposizione.

La valutazione del rischio per la salute umana rimane quindi un passaggio fondamentale perché i biocidi possano essere autorizzati, immessi sul mercato e utilizzati dal consumatore. Per l'autorizzazione è necessaria una valutazione rigorosa sia dei principi attivi (p.a.) che del prodotto biocida, in modo tale che entrambi siano ritenuti conformi alle condizioni stabilite dal Regolamento e che pertanto non comportino effetti indesiderati per la salute umana o animale o effetti inaccettabili per l'ambiente.

Prima dell'autorizzazione del prodotto biocida è necessario, infatti, valutare a livello comunitario i p.a. in esso contenuti, per stabilirne l'inclusione o meno nell'elenco di p.a. approvati dall'UE. In base alla procedura stabilita dal Regolamento (UE) n. 528/2012, per valutare se un p.a. può essere iscritto nella "lista positiva", deve essere presentato e valutato un dossier completo che soddisfi la richiesta di informazioni secondo l'Allegato II (Prescrizioni in materia di informazione per i principi attivi). In applicazione di una procedura internazionalmente accettata, non modificata sostanzialmente con l'emanazione del Regolamento (UE) 528/2012, relativamente alla valutazione del rischio per l'uomo, le informazioni da considerare sono quelle relative agli *end-point* necessari per delineare il profilo tossicologico della sostanza, ossia: tossicità acuta, ripetuta e cronica per le vie di somministrazione rilevanti; corrosività/irritazione oculare e cutanea; potenziale di sensibilizzazione cutanea; tossicocinetica; potenziale genotossico e cancerogeno; tossicità riproduttiva e dello sviluppo (3). In specifiche condizioni possono essere richiesti dati aggiuntivi da parte delle Autorità Competenti, dipendenti dal tipo di sostanza, dal suo profilo tossicologico, dalla destinazione d'uso e/o da particolari scenari di esposizione (es. studi di neurotossicità, studi di meccanismo di azione per dimostrare la specie-specificità di alcuni effetti, studi condotti mediante diverse vie di somministrazione).

Sebbene questi siano i *data requirements* richiesti per la presentazione del dossier per la valutazione del p.a., esistono alcune condizioni sulla base delle quali è possibile richiedere una deroga alla conduzione di studi specifici. Ne sono un esempio:

- l'evidenza, sulla base dell'uso proposto o del tipo di formulazione, che una via di esposizione sia irrilevante per l'uomo;
- l'esistenza di dati che dimostrino che la conduzione di uno studio sia tecnicamente impossibile o scientificamente ingiustificata: ad esempio studi, preliminari a studi di tossicità inalatoria, che diano prova dell'impossibilità di generare particelle respirabili da una data formulazione o dati di corrosione cutanea che automaticamente escludano la necessità di condurre studi di irritazione oculare e tossicità inalatoria;
- l'esistenza di dati di letteratura o ottenuti con metodologie alternative, che diano una base scientifica solida per una valutazione adeguata di somiglianza strutturale e tossicologica con altre sostanze per le quali lo studio sia disponibile (applicazione di *read-across*);
- l'esistenza di motivi etici legati al benessere animale: ad esempio inutilità di condurre su roditori studi di tossicità cronica per rodenticidi ad azione anticoagulante.

Tutto ciò fermo restando che le informazioni a disposizione siano sufficienti a che il valutatore e le Autorità Competenti possano identificare i valori di riferimento per quantificare l'eventuale rischio legato all'esposizione alla sostanza ed eventualmente predisporre le opportune misure di mitigazione del rischio, ivi incluso l'uso esclusivo a personale specializzato. I principi attivi che presentano profili di rischio inaccettabile non potranno essere approvati per l'uso come biocidi. Nel caso in cui la non approvazione dovesse avere per esempio gravi ripercussioni per il mancato controllo di un patogeno, dovranno essere attentamente valutate le possibilità di impiego di altri p.a. ad azione biocida o strumenti alternativi di controllo/prevenzione, che presentino un rischio significativamente inferiore per la popolazione umana e per l'ambiente, ma adeguati e sufficientemente efficaci.

Una delle principali novità introdotte dal Regolamento 528/2012, che determineranno una significativa modifica nella procedura di autorizzazione dei p.a., è senza dubbio l'introduzione dei cosiddetti criteri di esclusione (*cut-off criteria*), in linea con quello che già accade con l'applicazione del Regolamento n. 1107/2009, in materia di approvazione e immissione sul mercato di prodotti fitosanitari (4). Cercando di armonizzare le procedure di autorizzazione delle diverse tipologie di sostanze, i criteri per l'esclusione verranno applicati in fase pre-valutativa dei p.a., come risultato della loro classificazione sulla base del pericolo intrinseco delle sostanze. Per quello che concerne la tutela della salute umana e quindi che riguarda gli *end-point* tossicologici, vengono individuate come sostanze che rispondono a tali criteri e quindi per le quali non può essere a priori concessa alcuna approvazione come p.a.:

- sostanze che ricadono nei criteri di classificazione come cancerogeni in categoria 1A o 1B;
- sostanze che ricadono nei criteri di classificazione come mutageni in categoria 1A o 1B;
- sostanze che ricadono nei criteri di classificazione come tossici per la riproduzione in categoria 1A o 1B;
- sostanze che siano state individuate come potenziali interferenti endocrini e per le quali sia stata scientificamente comprovata la probabilità di causare effetti avversi per la salute umana.

L'applicazione di questo criterio di esclusione per il momento è rimasto in sospeso per la mancanza di appropriati criteri scientifici per l'individuazione delle proprietà di interferenti endocrini delle sostanze. A questo proposito la Commissione Europea ha individuato nel dicembre 2013, il termine ultimo per individuarli, richiedendo il parere a diversi gruppi di lavoro e Comitati Scientifici. Non c'è consenso, infatti, nella comunità scientifica sulla definizione di "interferente endocrino" e sulla differenza tra la capacità di indurre alterazioni ormonali entro limiti fisiologici, controbilanciati da meccanismi omeostatici e l'induzione di veri e propri effetti avversi. Inoltre, sebbene esistano delle linee guida validate e accettate

internazionalmente all'interno di una strategia sperimentale approvata e indicata dall'OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*) (per approfondimenti consultare il sito: [www.oecd.org/env/ehs/testing/](http://www.oecd.org/env/ehs/testing/)), tale strategia è in grado di individuare solo alcuni dei meccanismi d'azione che possono essere alla base degli effetti dovuti ad interferenza endocrina.

Data la natura e la destinazione d'uso dei biocidi è evidente come i potenziali rischi derivanti dall'uso di tali sostanze in ambienti specifici come scuole, asili, luoghi pubblici e di lavoro, siano da tener presenti durante l'intero processo valutativo. È per questo che, in accordo con la normativa precedente e quella vigente in altri ambiti regolatori (es. prodotti fitosanitari, cosmetici) (4, 5), il Regolamento (UE) n. 528/2012 tiene in debito conto l'esposizione a tali sostanze di gruppi di popolazione considerati vulnerabili, sia per entità e durata della loro esposizione, sia per la loro specifica suscettibilità come bambini, persone anziane, donne incinte o in allattamento, lavoratori e residenti. Dando indicazione di una specifica definizione di cosa si intenda per *gruppi vulnerabili*, il Regolamento 528/2012 evidenzia che in sede di valutazione si debba riservare particolare attenzione agli effetti acuti e cronici dei biocidi sulla salute, di tutta la popolazione generale, con particolare attenzione ai gruppi di individui maggiormente suscettibili, perché maggiormente esposti o per specifici stati fisio-patologici, fattori genetici e/o acquisiti, età, in quanto la protezione di questi ultimi assicurerà automaticamente la protezione del resto della popolazione.

## **Profilo tossicologico di un biocida alla luce della normativa europea in materia di sperimentazione animale**

La revisione dei *data requirements* sia per i p.a. che per i prodotti biocidi fa sì che il Regolamento (UE) n. 528/2012 sia in linea con la normativa vigente in altri ambiti regolatori, per la valutazione ad esempio di sostanze chimiche (Regolamento REACH) (6) o di prodotti fitosanitari (4) o cosmetici (5), anche relativamente alla sperimentazione o benessere animale. Il Regolamento, infatti, interviene in maniera significativa su tale tema, tenendo conto anche della legislazione vigente (Direttiva 2010/63/UE sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici) (7), riaffermando l'esigenza di creare un giusto equilibrio tra la necessità di informazioni ai fini di una maggiore tutela della salute umana e l'obiettivo di limitare l'uso di test *in vivo* e, ove possibile, evitare sperimentazioni non necessarie sugli animali. Per esempio è esplicitamente introdotta la possibilità di una deroga alla conduzione di alcuni studi sulla base della valutazione dell'esposizione; viene ad esempio ritenuto opportuno non condurre studi a lungo termine per una data via di esposizione, se è stato chiaramente dimostrato che l'esposizione umana attraverso quella via risulta minima.

Il Regolamento (UE) n. 528/2012 individua diverse strategie nel processo di autorizzazione di un prodotto biocida, nell'ottica della promozione della protezione e del benessere animale.

Viene introdotta la possibilità di richiedere, e quindi concedere, l'autorizzazione non solo per un singolo prodotto ma anche per una intera famiglia di prodotti biocidi, ossia prodotti per cui si prevedano usi simili e che contengano p.a. con le stesse specifiche, per i quali si prevedono variazioni nella composizione, che non incidano negativamente sul livello di rischio associato alla loro esposizione. Una sola autorizzazione, quindi, in tutti quei casi in cui, avendo disponibili dati per uno specifico prodotto, si preveda per altri prodotti una riduzione della percentuale di uno o più p.a. e/o una modifica in percentuale di una o più sostanze non attive e/o la sostituzione di una o più sostanze non attive con altre sostanze per le quali si stimi un rischio uguale o inferiore. Questa pratica, che spesso il valutatore applicava anche in passato,

utilizzando dati ottenuti su altri prodotti purché rappresentassero un “worst case”, adesso è esplicitamente indicata, nel Regolamento (UE) n. 528/2012, come una procedura da applicare.

La sperimentazione animale può essere evitata o notevolmente ridotta anche qualora vi siano sufficienti prove su prodotti biocidi simili per le quali sia stata dimostrata la trasferibilità al prodotto biocida in esame, applicando il cosiddetto metodo del *read-across*. Per sostanze le cui proprietà chimico-fisiche e tossicologiche siano identificate come simili, e che siano contenute in formulazioni con composizione e caratteristiche comparabili, è possibile, infatti, evitare di condurre lo studio per ogni singola sostanza e per ogni specifico *end-point* di pericolo. In questi casi è necessario fornire una giustificazione per la non presentazione dello studio (*justification for non-submission of data*), per quello specifico prodotto biocida e per quello specifico *end-point*. La giustificazione presentata deve essere adeguata, trasparente e basata su argomentazioni di tipo scientifico: è possibile, per esempio, far riferimento ai dati forniti per l'autorizzazione del p.a., purché si dia chiara indicazione del fatto che nel prodotto biocida si siano aggiunti solo co-formulanti inerti, quali ad esempio acqua o ingredienti presenti normalmente nei cibi (es. cereali, zuccheri presenti in alcune esche) o altre sostanze (es. coloranti o solventi non classificabili per le loro proprietà tossicologiche) a condizione che non si prevedano effetti di interazione con il p.a. e che queste possano influire su quello specifico *end-point*.

La mancata conduzione e presentazione di uno studio può essere anche basata su informazioni preesistenti sulla sostanza, sulla base dei quali la richiesta di test risulta inutile e non eticamente corretta. Nel caso in cui ad esempio informazioni disponibili indichino che per la sostanza test siano soddisfatti i criteri per la classificazione come corrosiva per la pelle o irritante per gli occhi, o se la sostanza è un acido forte ( $\text{pH} \leq 2,0$ ) o una base forte ( $\text{pH} \geq 11,5$ ), o se la sostanza è classificata come molto tossica a contatto con la pelle, si considera appropriata la deroga allo studio relativo al potenziale di irritazione cutanea/oculare.

Considerazioni preliminari sulla possibilità da parte di una sostanza di essere inalata vengono anche incluse in una specifica *testing strategy*, che ha lo scopo di stabilire la necessità o meno di condurre lo studio di tossicità acuta inalatoria. Informazioni relative alle proprietà chimico-fisiche della sostanza, accanto ad una attenta valutazione degli scenari e quindi delle vie di esposizione per quel determinato biocida, possono essere utili a stabilire che il rischio per l'uomo derivante dalla via di esposizione inalatoria è trascurabile e pertanto ulteriori studi non sono necessari. I dati utili al fine di definire il verificarsi dell'esposizione inalatoria e successivamente la biodisponibilità, includono: la pressione di vapore, che dà indicazione se la sostanza può essere inalata in forma di vapore; la distribuzione della grandezza delle particelle (MMDA, *Mass Median Aerodynamic Diameter*), che dà indicazione della presenza di particelle respirabili/inalabili; il valore di Log P: valori tra -1 e 4 indicano la possibilità da parte della sostanza di passare per diffusione passiva attraverso l'epitelio del tratto respiratorio.

Nel Regolamento 528/2012 non solo si scoraggia la duplicazione di test, soprattutto se prevedono l'uso di sperimentazione animale, ma si introduce la *condivisione obbligatoria* dei dati (*data sharing*) tra i notificanti a supporto della richiesta di autorizzazione di p.a. e di prodotto biocida e la possibilità di richiedere l'autorizzazione del prodotto biocida mediante procedura di *mutuo riconoscimento* tra gli Stati Membri. Accanto alla principale ragione dell'introduzione di tali norme, che è senza dubbio la riduzione dei test *in vivo* su animali, queste porteranno notevoli vantaggi sia in termini di costi (per le ditte in relazione alla necessità di generazione di nuovi dati), sia in termini di tempi necessari nel processo di valutazione e di autorizzazione. In ogni caso è però indispensabile tener conto della qualità e dell'adeguatezza dell'informazione basata sulla affidabilità e sulla rilevanza dei dati che, insieme, determinano l'accettabilità degli studi presentati.

Sulla base di queste considerazioni relative alla qualità del dato, i nuovi studi effettuati pertanto dovranno essere condotti seguendo *metodi standardizzati*, secondo linee guida

internazionalmente accettate (OECD *Test Guidelines*, OECD TG), conformi alle attuali prescrizioni in materia di protezione degli animali da laboratorio stabilite nella Direttiva 2010/63/UE (7) e, nel caso dei test tossicologici, così come per altri, quali ad esempio test ecotossicologici e chimico-fisici, ai principi di Buona Pratica di Laboratorio (BPL) (8). Per definire la rappresentatività rispetto al prodotto per cui si richiede l'autorizzazione, occorre fornire una descrizione quantitativa e qualitativa dettagliata (*specificazione*) del prodotto utilizzato per ciascun test e delle impurezze in esso contenute.

Questo non significa che dati ottenuti da studi datati, condotti prima dell'entrata in vigore delle linee Guida dell'OECD e dei principi di BPL, o condotti con metodi non adeguati agli standard attualmente accettati, o pubblicati nella letteratura aperta, non debbano essere presi in considerazione. La loro accettabilità come studi "chiave" (*key studies*) o solo come dati a supporto (*supporting studies*) è di solito valutata, in termini di qualità, seguendo codificati criteri secondo quanto stabilito da Klimisch (9).

Per la valutazione del rischio per la salute umana e per migliorare la comprensione dei potenziali effetti tossici legati all'esposizione ad un biocida, nel Regolamento 528/2012 viene sottolineata la necessità di utilizzare una strategia integrata e il più possibile flessibile nella produzione e nell'interpretazione dei dati. Vengono infatti incoraggiati approcci multidisciplinari, che integrino informazioni note sulla sostanza in esame (compresi dati di letteratura, dati "storici" sull'uomo o dati utilizzati da altre agenzie internazionali); metodologie basate su modelli previsionali (metodi *in silico*), come le relazioni quantitative struttura-attività (Q)SAR, le quali utilizzando proprietà chimico-fisiche e presenza di allerte strutturali possano dare indicazione della probabilità che una specifica proprietà tossicologica sia caratteristica della sostanza in esame e infine dati sperimentali. Tutte le informazioni disponibili devono essere utilizzate con un approccio basato sul peso dell'evidenza (*Weight of Evidence*, WoE), all'interno del quale il peso maggiore è dato alle informazioni con maggiore rilevanza e affidabilità o in alternativa una notevole quantità di dati, nessuno di per se decisivo, che nell'insieme costituiscano una evidenza convincente. Qualora si disponga di sufficienti informazioni derivanti da diverse fonti, che consentano in base all'approccio WoE di valutare con ragionevole sicurezza, se una sostanza possieda o meno una particolare proprietà tossicologica, potrebbe non essere necessario produrre nuovi dati sperimentali.

All'interno della strategia indicata, il Regolamento 528/2012 spinge verso l'utilizzo e l'accettazione, ove possibile, di "metodologie alternative", purché validate, internazionalmente accettate e considerate adatte a generare dati adeguati a condurre valutazioni che garantiscano un elevato livello di protezione della salute umana. Per *metodo alternativo* si intende ogni metodo o procedura che conduca alla completa sostituzione dell'esperimento in vivo (*modelli previsionali in silico*, *test in vitro*) o alla riduzione del numero di animali richiesti, nonché all'ottimizzazione delle procedure sperimentali, allo scopo di limitare la sofferenza e lo stress animale, in linea con il principio delle 3R (*Replace, Reduce, Refine*). Il continuo impegno a livello Europeo, per lo sviluppo e la validazione di metodi alternativi all'interno di EURL ECVAM (*European Union Reference Laboratory European Centre for the Validation of Alternative Methods*) (10), in collaborazione con diverse Autorità Competenti, Working Group all'interno dell'OECD, della Commissione Europea, attraverso il finanziamento di vari progetti e di altre organizzazioni internazionali, ha portato all'adozione di diverse linee guida dell'OECD. Nella Tabella 1 sono riportate le linee guida dell'OECD, adottate per l'identificazione del pericolo e quindi della classificazione del prodotto biocida, relativamente ai suoi effetti di tossicità acuta sistemici e locali, in accordo con il principio delle 3R. A queste vanno aggiunte le TG relative ai test *in vitro* per l'identificazione del potenziale genotossico e di interferente endocrino.

Tabella 1. Lista delle linee guida dell'OECD (OECD TG) adottate\* rispondenti al principio delle 3R

OECD TG	Tipo di test	Principio
<b>Tossicità acuta (effetti sistemici)</b>		
436	Tossicità inalatoria - <i>Toxic Class Method</i> , 2009	<i>Reduction;Refinement</i>
420	Tossicità orale - <i>Fixed Dose Method</i> , 2001	<i>Reduction;Refinement</i>
423	Tossicità orale - <i>Toxic Class Method</i> , 2001**	<i>Reduction;Refinement</i>
425	Tossicità orale - <i>Up and Down Method</i> , 2001 (aggiornamento 2008)	<i>Reduction;Refinement</i>
<b>Tossicità acuta (effetti locali)</b>		
404	Corrosione/irritazione cutanea, 2002	<i>Reduction;Refinement</i>
405	Corrosione/irritazione oculare, 2002 (aggiornamento 2012)	<i>Reduction;Refinement</i>
406	Sensibilizzazione cutanea, 1992	<i>Refinement</i>
430	Corrosione cutanea <i>in vitro</i> : <i>Transcutaneous Electrical Resistance Test (TER) Test</i> , 2004	<i>Replacement</i>
431	Corrosione cutanea <i>in vitro</i> : <i>Human Skin Model Test</i> , 2004	<i>Replacement</i>
432	Test di fototossicità <i>In vitro 3T3 Neutral Red Uptake (NRU)</i> , 2002	<i>Replacement</i>
437	Corrosione/irritazione severa oculare <i>Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP)</i> , 2009	<i>Replacement</i>
438	Corrosione/irritazione severa oculare <i>Isolated Chicken Eye</i> , 2009	<i>Replacement</i>
439	Irritazione cutanea <i>in vitro</i> , 2010	<i>Replacement</i>
	Sensibilizzazione cutanea <i>Local Lymph Node Assay (LLNA)</i>	
429	<i>LLNA</i> , 2002 aggiornamento 2010	
442A	<i>LLNA non radioactive (bio-luminescence)</i> ***	
442B	<i>LLNA ELISA (incorporazione BrdU)</i> ***	<i>Reduction;Refinement</i>
460	Corrosione/irritazione severa oculare <i>Fluorescein Leakage (FL) test method</i> , 2012	<i>Refinement</i>

\* Aggiornamento ottobre 2012

\*\* Metodo di elezione secondo l'Annex B.5. Regolamento (CE) n. 440/2008 (11);

\*\*\* Regolamento (UE) n. 640/2012 (12).

In alcune linee guida è specificamente richiesta l'adozione di procedure sperimentali che introducono una sequenzialità nelle prove da condurre, la cosiddetta *Integrated Testing Strategy*, partendo da informazioni note sulla sostanza, ricorrendo prima a informazioni note, metodi *in silico* e metodi *in vitro* disponibili: i dati prodotti devono però essere sufficienti per l'identificazione del pericolo della sostanza e quindi esaustivi ai fini della classificazione ed etichettatura e/o della valutazione dei rischi connessi all'uso del biocida. Al momento alcuni test *in vitro* hanno limiti di applicabilità e non hanno perciò la potenzialità di essere utilizzati come *stand-alone method*; il loro utilizzo può essere utile in fase di pre-screening per escludere, ad esempio, effetti di corrosione o di severa irritazione oculare come la TG OECD 460 - *Fluorescein Leakage test method*. Analogamente la TG OECD 437 - *Bovine Corneal Opacity and Permeability test method* ha come limitazione il fatto di essere in grado di identificare solo sostanze corrosive o fortemente irritanti, ma non di discriminare sostanze debolmente o moderatamente irritanti. Risultati positivi nel test *in vitro*, quindi, hanno come conseguenza l'interruzione della sperimentazione, con notevoli vantaggi in termini di riduzione del numero di animali utilizzati e di ingiustificata sofferenza per l'animale, prima di ricorrere alla sperimentazione *in vivo* sull'animale, necessaria solo in caso di risultato negativo. Laddove si ricorra alla conduzione di test *in vitro* è strettamente necessario da parte del notificante e del valutatore conoscere e tener in debito conto delle limitazioni e dei campi di applicazione di un determinato test, così come chiaramente indicato nelle stesse TG OECD.

Qualora gli studi sugli animali risultino indispensabili, la normativa vigente impone che questi siano condotti nel rispetto del benessere degli animali. Si prediligono pertanto, anche in

questi casi, procedure a step, seguendo le indicazioni presenti nelle specifiche TG OECD, secondo i principi di *Reduction* e *Refinement*. Ad esempio, nel caso della TG OECD 405, per l'identificazione del potenziale di irritazione oculare si parte dall'utilizzo di un singolo animale, che è utilizzato da controllo e da test, trattando con la sostanza in esame un solo occhio e lasciando l'altro come controllo negativo. La sperimentazione si conclude in presenza di effetti di marcata irritazione, alternativamente si prosegue con il trattamento di ulteriori 2 animali. La continua revisione delle TG OECD alla luce delle nuove tecniche e conoscenze scientifiche disponibili, ha portato anche, ove possibile, a prevedere l'uso preventivo di analgesici/anestetici (locali o sistemici) per limitare il dolore e lo stress nell'animale senza influenzare il risultato dello studio (TG OECD 405 aggiornamento 2012). Lo studio presentato deve seguire, inoltre, integralmente le indicazioni riportate dalle TG, anche nelle modalità in cui vengono descritti i dati nei report finali, specificando dettagliatamente la composizione della formulazione del prodotto in esame e la procedura utilizzata nell'esecuzione in parallelo, se richiesta, di controlli negativi e/o positivi. La valutazione dei dati e la conseguente classificazione del prodotto deve essere riferita a tabelle di "scoring" validate che ad esempio riferiscano l'entità della risposta ottenuta a quella di controlli positivi, ove previsti. È auspicabile infine che test per cui sia stata dimostrata la non attendibilità, e quindi la non accettazione a livello regolatorio, non vengano in alcun caso condotti e presentati al fine della valutazione perché del tutto inutilizzabili.

## Informazioni tossicologiche richieste per l'autorizzazione di un prodotto biocida

Per l'autorizzazione di un prodotto biocida viene presentato e valutato un dossier completo rispondente ai requisiti di cui all'Allegato III (Prescrizioni in materia di informazione per i biocidi) del Regolamento (UE) n. 528/2012; nel caso in cui uno o più prodotti siano considerati rappresentativi di un determinato p.a., tale dossier viene inoltrato contestualmente all'autorizzazione del p.a.

Come indicato nel Capitolo 1 dell'Allegato III, per il prodotto biocida generalmente sono richieste come informazioni di base (*Core Data Set*, CDS) solo quelle relative alla identificazione della pericolosità. I dati appartenenti al CDS sono considerati dati fondamentali che dovrebbero, in linea di massima, essere forniti per tutti i prodotti biocidi. Per tutti gli altri *end-point* ci si riferisce alle caratteristiche del p.a., per il quale sono stati già identificati gli effetti tossici e i valori di riferimento da adottare. I test tossicologici presentati ai fini dell'autorizzazione dovrebbero essere effettuati secondo i metodi descritti nella Parte B del Regolamento (CE) n. 440/2008 (12) e successivi aggiornamenti, che traspongono quanto indicato nelle linee guida OECD sopra menzionate. Tuttavia, se ritenuto necessario, possono essere impiegati altri metodi scientificamente idonei, possibilmente riconosciuti a livello internazionale, giustificando nella domanda il motivo di scelta. L'insieme di informazioni di base (CDS) ai fini dell'autorizzazione di un prodotto biocida sono elencate nella Tabella 2, dove nella colonna di sinistra sono riportate le indicazioni specifiche per la presentazione dei dati e nella colonna di destra, considerata l'importanza di ridurre la sperimentazione animale, indicazioni specifiche per l'adattamento di alcuni dei dati, per i quali si dovrebbe ricorrere a test *in vivo*.

In base a specifici usi e scenari di esposizione previsti per un determinato prodotto biocida, è possibile richiedere un insieme di informazioni supplementari (*Additional Data Set*, ADS), quali, ad esempio, studi relativi alla presenza di residui in alimenti destinati al consumo umano e animale; effetti di processi industriali e/o domestici sulla natura e quantità di residui.

**Tabella 2. Informazioni di base (Core Data Set, CDS) richieste per l'autorizzazione di un prodotto biocida relativamente al profilo tossicologico**

Dati standard richiesti	Norme per gli adattamenti rispetto a quanto richiesto
<p><b>1. Irritazione/corrosione cutanea</b> Step wise strategy secondo allegato B.4. del Regolamento (CE) n. 440/2008 (11)</p>	<p>Non è necessario effettuare i test sul prodotto/sulla miscela se sono disponibili dati validi su ciascuno dei componenti della miscela sufficienti a permettere la classificazione e non si prevedono effetti sinergici tra i componenti.</p>
<p><b>2. Irritazione oculare</b> (test non necessario qualora il biocida abbia dimostrato di avere proprietà potenzialmente corrosive) Step wise strategy secondo allegato B.4. del Regolamento (CE) n. 440/2008 (11)</p>	<p>Non è necessario effettuare i test sul prodotto/sulla miscela se sono disponibili dati validi su ciascuno dei componenti della miscela sufficienti a permettere la classificazione e non si prevedono effetti sinergici tra i componenti.</p>
<p><b>3. Sensibilizzazione cutanea</b> La valutazione comprende fasi consecutive: - valutazione dei dati relativi all'uomo e agli animali e dei dati alternativi disponibili; - sperimentazione <i>in vivo</i>: saggio LLNA (varianti aggiornate 2012) sui topi (metodo di elezione); se è utilizzato un altro test di sensibilizzazione cutanea, deve essere fornita una giustificazione.</p>	<p>Non è necessario effettuare i test sul prodotto/sulla miscela se: sono disponibili dati validi su ciascuno dei componenti della miscela sufficienti a permettere la classificazione e non si prevedono effetti sinergici tra i componenti; le informazioni disponibili indicano che il biocida va classificato per sensibilizzazione cutanea o corrosività; se la sostanza è un acido forte (pH &lt; 2,0) o una base forte (pH &gt; 11,5).</p>
<p><b>5. Tossicità acuta</b> Approccio standard, graduale previsto dal Regolamento (CE) n. 1272/2008 (13) per la classificazione delle miscele che presentano un pericolo di tossicità acuta: - per via orale - per inalazione - per via dermica. Per i biocidi, destinati a essere autorizzati per uso combinato con altri biocidi, vengono valutati i rischi per la salute umana, derivanti dall'utilizzo delle combinazioni di prodotti (valutazione anche effettuata mediante calcolo o uso di un numero limitato di studi sulla tossicità acuta di specifiche combinazioni di prodotti).</p>	<p>Non è necessario effettuare i test sul prodotto/sulla miscela se sono disponibili dati validi su ciascuno dei componenti della miscela sufficienti a permettere la classificazione e non si prevedono effetti sinergici tra i componenti.</p>
<p><b>6. Assorbimento percutaneo</b> Dati richiesti nel caso in cui è prevista l'esposizione cutanea al biocida. Valutazione effettuata mediante un approccio graduale.</p>	<p>È disponibile un test <i>in vitro</i> (TG OECD 428)</p>
<p><b>7. Dati tossicologici disponibili</b> - relativi a una o più sostanze non attive che destano preoccupazione (<i>Substance of Concern</i>, SoC); - relativi a una miscela di cui sono componenti una o più SoC. Se per una o più sostanze non attive non sono disponibili dati sufficienti e i dati non possono essere dedotti mediante read-across o con altri metodi alternativi accettati, si procede al test mirato o ai test mirati per la/e SoC o per la miscela.</p>	<p>Non è necessario effettuare i test sul prodotto/sulla miscela se sono disponibili dati validi su ciascuno dei componenti della miscela sufficienti a permettere la classificazione e non si prevedono effetti sinergici tra i componenti.</p>

Per valutare i rischi per la salute di un prodotto biocida è necessario considerare gli effetti causati dalla formulazione e, nel caso della non disponibilità dei dati, dalla pericolosità intrinseca e dagli effetti tossici causati dal/i p.a. contenuto/i e da eventuali co-formulanti. Nella maggioranza dei casi, così come indicato nella Tabella 2 (inclusa nel Regolamento 528/2012), la pericolosità di un prodotto può essere determinata attraverso una attenta valutazione dei singoli componenti. Tutto ciò è possibile assumendo che i vari componenti agiscano indipendentemente gli uni dagli altri, con bersagli e meccanismi d'azione diversi. Nel caso il bersaglio e/o il meccanismo siano gli stessi, si può presupporre che gli effetti siano additivi (come nella maggioranza dei casi). Sono, però, possibili anche fenomeni di interazione (sinergismo o antagonismo), che possono portare ad una alterazione degli effetti attesi, dovuti a reazioni tra i vari componenti o alla modifica della biodisponibilità di un componente, come nel caso dell'aumento di assorbimento percutaneo di una sostanza dovuto alla presenza nella formulazione di emulsionanti e/o solventi. La valutazione di effetti potenzialmente influenzati dal tipo di formulazione spetta al valutatore che, sulla base del suo giudizio di esperto (*expert judgement*), analizzerà i dati disponibili applicando la procedura più adatta caso per caso.

Per quanto riguarda l'approccio da utilizzare nella valutazione dell'assorbimento percutaneo da utilizzare nella valutazione dell'esposizione al prodotto biocida, al momento attuale non è stato ancora raggiunto un accordo definitivo a livello comunitario tra i diversi Stati Membri. Sono state presentate diverse proposte, nelle quali sono alternativamente presenti diversi elementi da tenere in considerazione: dati disponibili sulla formulazione specifica; dati ricavabili dall'*Assessment Report* del p.a., purché corredati dalla lettera di accesso al dato originale, e da argomentazioni chiare relativamente alla similitudine con il prodotto biocida in esame, in termini qualitativi (tipo di p.a., solventi, sostanze non attive) e quantitativi (concentrazione di p.a.); l'applicazione di valori di default sulla base delle caratteristiche chimico-fisiche del p.a. e del tipo di formulazione, in linea con la linea guida EFSA sull'assorbimento percutaneo adottata per i prodotti fitosanitari (14). In mancanza di almeno uno dei dati precedentemente descritti e se anche dopo l'affinamento della valutazione dell'esposizione, si sia in condizioni di rischio inaccettabile, il valutatore può richiedere un nuovo studio condotto con il prodotto biocida in valutazione. In questo caso lo studio richiesto come prima opzione è il test *in vitro* su pelle ricostituita umana, in accordo con la TG OECD 428.

## Bibliografia

1. Europa. Regolamento (UE) n. 528/2012 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 22 maggio 2012 in merito alla messa a disposizione sul mercato e all'uso dei biocidi. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 167/1, 27/6/2012.
2. Europa. Direttiva 98/8/CE del Parlamento Europeo e Consiglio del 16 febbraio 1998, relativa all'immissione sul mercato dei biocidi. *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee* L123/1, 24/4/98.
3. Testai E, Di Consiglio E. Tossicità per l'uomo ed il suo ruolo nella valutazione del rischio dei prodotti biocidi. In: Bascherini S, Rubbiani M (Ed.). *Convegno. Aspetti tecnici e applicativi nella valutazione di un prodotto biocida. Istituto Superiore di Sanità. Roma, 19 ottobre 2010*. Atti. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2011. (Rapporti ISTISAN 11/10). p. 53-61.
4. Europa. Regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 21 ottobre 2009, relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari e che abroga le direttive del Consiglio 79/117/CEE e 91/414/CEE. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 309/1, 24/11/2009.
5. Europa. Regolamento (CE) n. 1223/2009 del Parlamento Europeo e del Consiglio, novembre 2009 sui prodotti cosmetici. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L342/59, 22/12/2009.

6. Europa. Regolamento (CE) n. 1907/2006 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 18 dicembre 2006 concernente la registrazione, la valutazione, l'autorizzazione e la restrizione delle sostanze chimiche (REACH), che istituisce un'agenzia europea per le sostanze chimiche, che modifica la direttiva 1999/45/CE e che abroga il regolamento (CEE) n. 793/93 del Consiglio e il regolamento (CE) n. 1488/94 della Commissione, nonché la direttiva 76/769/CEE del Consiglio e le direttive della Commissione 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE e 2000/21/CE. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 136/3, 29/5/2007.
7. Europa. Direttiva 2010/63/UE del Parlamento europeo e del Consiglio del 22 settembre 2010 sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 276/33, 20/10/2010.
8. Europa. Direttiva 2004/10/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio, febbraio 2004 concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative relative all'applicazione dei principi di buona pratica di laboratorio e al controllo della loro applicazione per le prove sulle sostanze chimiche. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 50/44, 20/2/2004.
9. 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.
10. European Commission, Joint Research Centre. *European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing*. Ispra (Varese): EURL ECVAM; 2013. Disponibile all'indirizzo: [http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our\\_labs/eurl-ecvam](http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-ecvam); ultima consultazione 10/8/13.
11. Europa. Regolamento (CE) n. 440/2008 della Commissione, maggio 2008, che istituisce i metodi di prova ai sensi del regolamento (CE) n. 1907/2006 del Parlamento Europeo e del Consiglio concernente la registrazione, la valutazione, l'autorizzazione e la restrizione delle sostanze chimiche (REACH). *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 142/1, 31/5/2008.
12. Europa. Regolamento (CE) n. 640/2012 della Commissione, luglio 2012 recante modifica del regolamento (CE) n. 440/2008 che istituisce dei metodi di prova ai sensi del regolamento (CE) n. 1907/2006 del Parlamento Europeo e del Consiglio concernente la registrazione, la valutazione, l'autorizzazione e la restrizione delle sostanze chimiche (REACH), al fine di adeguarlo al progresso tecnico. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 193/1, 20/7/2012.
13. Europa. Regolamento (CE) n. 1272/2008 del Parlamento Europeo e del Consiglio, Dicembre 2008, che riguarda la classificazione, l'etichettatura e l'imballaggio delle sostanze e delle miscele; modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 353/1, 31/12/2008
14. EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR). Guidance on dermal absorption. *EFSA Journal* 2012;10(4):2665.