

# TEST DI EFFICACIA PER GLI INSETTICIDI

Luciano Toma

*Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

## Introduzione

Con l'emanazione della Direttiva 98/8/CE relativa all'immissione sul mercato dei prodotti biocidi, recepita nel nostro Paese con il Decreto Legislativo 25 febbraio 2000, n. 174, il legislatore europeo ha inteso armonizzare le diverse normative degli Stati Membri. La Direttiva riguarda l'autorizzazione all'immissione sul mercato dei biocidi negli Stati Membri, il riconoscimento reciproco delle autorizzazioni all'interno della Comunità Europea e la compilazione a livello comunitario di un elenco di principi attivi che possono essere impiegati nei biocidi. Obiettivi di tale attività sono fondamentalmente il compimento di un programma di revisione decennale di tutti i principi attivi contenuti in prodotti biocidi presenti in commercio alla data del 14 maggio 2000 e l'iscrizione nell'allegato I e IA o IB della Direttiva 98/8/CE dei principi attivi che superano la valutazione con esito positivo. In questo modo gli allegati I e IA costituiranno la lista delle sostanze che possono essere impiegate in prodotti biocidi che quindi possono essere autorizzati o registrati. Tra i biocidi, gli insetticidi sono quelle sostanze che esercitano tossicità sugli insetti e su altri artropodi dannosi per l'uomo e le sue attività, e per questo impiegati in ambito domestico, agricolo, veterinario e dell'igiene pubblica. L'obbligo di redigere dossier tossicologici completi e realizzati secondo metodi di valutazione standard da sottoporre all'attenzione di commissioni governative ha lo scopo di mantenere in uso sul mercato europeo solo i biocidi per i quali sia stata accertata il minor rischio possibile per l'uomo, per gli animali e per l'ambiente. I prodotti insetticidi sono classificabili secondo diversi criteri, per esempio:

1. *in base alla durata dell'azione*: abbattente oppure a effetto residuale;
2. *secondo lo stadio nel quale colpiscono l'organismo bersaglio*: adulticidi per gli organismi adulti, larvicidi per gli organismi allo stadio larvale, oocidi per le uova;
3. *in relazione alle specie colpite*: blatticidi, moschicidi, o polivalenti;
4. *in base al tipo di azione*: per contatto, per ingestione o per asfissia;
5. *in base all'effetto*: sistemico, sterilizzante, dissecante.

I principi attivi insetticidi esplicano la loro azione a dosaggi molto ridotti (pochi grammi o milligrammi per m<sup>2</sup>), devono quindi essere diluiti per poter essere distribuiti uniformemente sulla superficie da trattare; i formulati sono i prodotti di tale operazione effettuata con procedimenti industriali e sono costituiti da una certa quantità di principio attivo insetticida, diluenti e vettori chimicamente inerti detti coformulanti. Il principio attivo può essere puro (il prodotto di sintesi con purezza pressoché assoluta) o tecnico cioè ottenuto con una purezza inferiore al 98%. Tra i formulati più usati si ricordano i liquidi concentrati, i concentrati emulsionabili, i microincapsulati, le polveri secche, le polveri bagnabili, i granulari, gli spray, le esche gel di più recente diffusione. Per questi motivi, appare chiaro come sia necessario sottoporre un prodotto insetticida ad una valutazione della sua efficacia: è quindi necessario disporre di test standard di obiettività riconosciuta.

## Test di efficacia dei prodotti insetticidi

Per la valutazione dell'efficacia di un prodotto insetticida esistono linee guida comunitarie che si rifanno a protocolli redatti da Enti o Agenzie internazionali come il WHO (*World Health Organization*), l'EPA (*Environmental Protection Agency*), CDC (*Center for Diseases Control*), EPPO (*European Plant Protection Agency*), AFFSA (*French Agency for Food Safety*), MAFF (*Ministry of Agriculture, Fisheries and Food*).

I documenti in questione forniscono una guida per l'esecuzione di test di laboratorio, test di semi-campo e test di campo, per determinare l'efficacia, le dosi di impiego, l'applicabilità e infine l'accettabilità di un insetticida (o di un repellente). Vengono riportate come esempio le linee guida per test di laboratorio e di campo per un prodotto larvicida larvicidi per zanzare proposte dal WHO (WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13), che consistono in tre fasi di lavoro: una prima fase in cui vengono condotti studi di laboratorio, una seconda fase in cui vengono condotti studi di semi campo (o su piccola scala) e una terza fase di studi di campo (o su larga scala).

Nella prima fase l'obiettivo del test è quello di determinare le potenzialità di un formulato (in questo caso, di cui il principio attivo è già incluso in Allegato I. Lo scopo del test è identificabile nei seguenti punti:

1. stabilire la retta di regressione dose-risposta (mortalità) in specie sensibili all'insetticida;
2. determinare la concentrazione letale (LC) del larvicida per il 50% e 90% di mortalità o per il 50% e 90% di inibizione dello sfarfallamento (IE50 and IE90);
3. stabilire una concentrazione discriminante per monitorare la sensibilità/resistenza delle popolazioni raccolte sul campo;
4. stabilire l'eventuale resistenza incrociata ai più comuni insetticidi usati.

La procedura del test di laboratorio in questione prevede l'impiego di ceppi di zanzare allevate in laboratorio (o F1 di zanzare di campo) di età nota. Vengono utilizzate 20-25 larve di II-III età sottoposte a 24-48 ore di esposizione al larvicida somministrato a concentrazioni diverse all'interno del suo range di attività.

È previsto un controllo negativo, cioè di un identico campione di larve che non si viene trattato con l'insetticida. Vengono effettuati tre test separati (minimo 3 concentrazioni) con almeno 3-4 repliche in cui non si tiene conto delle larve che si impupano; se la mortalità osservata supera il 20% il test si considera nullo, se invece essa è compresa tra 5% e 20% viene corretta mediante la formula di Abbott:

$$\text{Mortalità (\%)} = \frac{X - Y}{X} 100$$

dove X= percentuale di sopravvissuti nel controllo e Y= percentuale dei sopravvissuti nel campione trattato. I valori di LC<sub>50</sub> e di LC<sub>90</sub> vengono calcolati mediante una retta di regressione dose/ mortalità ottenuta con software specifici; viene calcolata la deviazione standard (DS) delle medie dei valori di LC<sub>50</sub> e la serie di prove viene considerata valida se la deviazione standard relativa è < 25%. Per prodotti a base di regolatori della crescita, inibitori della chitinasi o larvicidi biologici si seguono differenti procedure, dovute al diverso funzionamento di tali insetticidi. I larvicidi che hanno mostrato buoni risultati in laboratorio vengono testati sul campo eseguendo saggi su piccola scala in focolai larvali disponibili con condizioni misurabili (volume d'acqua, luce, temperatura...), oppure realizzando focolai larvali ad hoc.

Nella seconda fase dei saggi di campo su piccola scala (o di semi campo) gli obiettivi sono:

1. determinare l'efficacia e l'attività residua del prodotto secondo la specie bersaglio e le caratteristiche ecologiche del sito;

2. determinare la dose di campo ottimale per la specie target ;
3. registrare e tenere in conto gli effetti sulle specie non bersaglio e soprattutto sui predatori.

Ogni sito deve contenere un numero noto di larve; i formulati vengono testati a un dato numero di concentrazioni di cui la prima è il doppio della LC99 (3 repliche). Al fine di valutare l'efficacia del prodotto, viene effettuato il monitoraggio del numero di larve dopo 2 giorni dal trattamento e poi settimanalmente (in assenza di ulteriore trattamento) fino a raggiungimento di una situazione simile quella del controllo, cioè fino alla ricomparsa delle larve.

I larvicidi che hanno mostrato buoni risultati su piccola scala, vengono testati su larga scala su popolazioni naturali della specie bersaglio; la dose individuata nei saggi della seconda fase e ritenuta ottimale per i siti larvali idonei alla specie viene utilizzata per trattare tutti quelli che si incontrano nel contesto reale.

Nella terza fase dei saggi di campo su larga scala (o di campo) gli obiettivi sono:

1. confermare l'efficacia e l'attività residua del prodotto secondo la specie bersaglio;
2. registrare e tenere in conto gli effetti sulle specie non bersaglio;
3. valutare gli effetti della dispersione dell'insetticida;
4. valutare la accettazione dell'intervento da parte della comunità che insiste sul sito;
5. osservare e valutare gli effetti sull'operatore.

Dovrebbero essere considerati almeno 25-30 plot (siti o repliche) per ogni tipo di habitat larvale della specie, tenendo presente che habitat troppo vasti possono essere suddivisi in repliche di circa 10m<sup>2</sup>. In questa fase monitoraggi settimanali prima e dopo il trattamento si rivelano indispensabili per valutare l'efficacia del prodotto.

La prova di campo consente anche di raccogliere utili informazioni circa l'impatto che l'uso del prodotto ha sulla popolazione che insiste sull'area trattata (in termini di impressione, applicabilità, disagio, curiosità) nonché sul personale che distribuisce l'insetticida (in termini di problemi pratici di varia natura).

## **Standardizzazione dei saggi di efficacia di prodotti insetticidi per uso domestico**

I protocolli operativi ufficiali per saggi di efficacia su infestanti domestici sono relativamente pochi e quasi mai prevedono test di campo o tantomeno di semi campo. Fanno eccezione i test sulle zanzare, che prevedono per l'appunto prove di laboratorio i cui risultati vengono trasferiti in condizioni di semi campo prima e di campo dopo, e i test sulle mosche spesso completi di dati di campo; per i prodotti destinati al controllo degli altri artropodi sono disponibili protocolli operativi per le sole prove di laboratorio.

Ciò che oggi manca o quantomeno che dovrebbe essere incrementato, è una linea di studi *ad hoc* che consenta di saggiare l'efficacia di insetticidi selettivi cioè destinati al controllo di gruppi sempre più ristretti di organismi bersaglio, soprattutto in ambito domestico.

Servirebbe inoltre impostare e validare standard di sperimentazione per test di semi campo per riprodurre quanto più possibile le condizioni reali di contatto insetticida/bersaglio. Un esempio di ciò è fornito dalle prove di contatto forzato mirate a valutare l'efficacia di prodotti per il controllo delle blatte e in generale degli artropodi detti sommariamente (e impropriamente) "striscianti". Si tratta di un test detto anche "test della mattonella" che consiste nel trattare con l'insetticida una superficie di 10cm<sup>2</sup> sulla quale viene confinato un insetto (per esempio una blatta) per un dato periodo di tempo nel quale il campione in questione è costretto ad assumere una certa quantità di prodotto. In questo caso però la quantità di prodotto con il

quale l'insetto entra in contatto risulta notevolmente superiore a quella che esso assumerebbe in condizioni reali.

Di qui l'esigenza di concepire test che riproducano situazioni più simili a quelle reali e in questo caso ciò si tradurrebbe in un test condotto su una superficie molto più ampia ma facilmente controllabile come per esempio una superficie di 300cm<sup>2</sup>, sulla quale si potrebbero condurre prove di applicazione dell'insetticida il più possibile vicine a quello che può verificarsi in un'abitazione. La stessa considerazione si può estendere ai test per la valutazione di efficacia dei prodotti per uso domestico per il controllo degli insetti volanti formulati come spray abbattenti. EPA/WHO hanno proposto negli scorsi decenni test condotti in ambienti molto limitati come la Gabbia di Peet-Grady, una gabbia di forma cubica con 180 cm di lato e una serie di aperture per inserire gli insetti e il prodotto da saggiare; oggi gli stessi test dovrebbero essere condotti in stanze-laboratorio di almeno 30m<sup>3</sup> o più per riprodurre al meglio le condizioni di un ambiente di un'abitazione privata. Ciò riguarda il caso dei fornelli e degli emanatori elettrici (Con piastrelle o con liquidi) indicati per uso interno all'ambiente domestico a finestre aperte o nel caso di zampironi e candele per impiego esclusivamente all'aperto (in verande, terrazzi e giardini).

Inoltre i prodotti contenenti principi attivi destinati ad un uso in ambiente domestico dovrebbero riportare sempre in etichetta le caratteristiche di efficienza e sicurezza adatti a tale uso. Allo stesso modo l'etichetta dovrebbe sempre riportare la specificità di impiego e la destinazione d'uso almeno rispetto a macrocategorie come quelle di insetti volanti o striscianti, nelle quali ricadono animali che difficilmente potranno essere controllati evidentemente dallo stesso tipo di formulato. Un classico esempio di quanto appena esposto è il caso di blatte e zecche, animali molto lontani sia dal punto di vista tassonomico (insetti i primi e aracnidi i secondi) che fisiologico (le zecche sembrano essere meno sensibili degli insetti ai prodotti insetticidi) per i quali non si può considerare scontata l'efficacia di un unico prodotto per entrambi. Infine sarebbe opportuno che gli insetticidi per uso domestico siano venduti come prodotti pronti all'uso il più possibile inaccessibili a organismi non bersaglio (in trappole e/o dispenser).

In conclusione si auspica che la documentazione presentata costituisca un idoneo strumento per la valutazione scientifica, che standardizzi i test di efficacia per i diversi prodotti da registrare, nell'ambito di un maggiore impegno nella produzione di saggi di qualità e di etichette semplici e non ambigue da parte di chi richiede la registrazione.

## Bibliografia

- ECB, 2010. Technical Notes for Guidance. Insecticides, acaricides and products to control other arthropods (PT 18) and repellents and attractants (only concerning arthropods) (PT19), European Commission, Directorate-General Environment, Directorate D - Water, Chemicals & Biotechnology, 91pp.
- EPA, 1998. Product Performance Test Guidelines OPPTS 810.3000 General Considerations for Efficacy of Invertebrate Control Agents. United States Environmental Protection Agency, 4pp.
- OECD, 2008. Series on emission scenario documents - Number 18. Emission scenario document for insecticides, acaricides and products to control other rthropods for household and professional uses. OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on Emission Scenario, 188pp.
- WHO, 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. World Health Organization, Communicable disease control, prevention and eradication WHO pesticide evaluation scheme, 39 pp.

WHO, 2009. Guidelines for efficacy testing of household insecticide products mosquito coils, vaporizer mats, liquid vaporizers, ambient emanators and aerosols. World Health Organization, Communicable disease control, prevention and eradication WHO pesticide evaluation scheme, 41pp.

WHO, 2009. Guidelines for efficacy testing of insecticides for indoor and outdoor ground-applied space spray applications. World Health Organization, Communicable disease control, prevention and eradication WHO pesticide evaluation scheme, 61pp.