

## II

(Atti non legislativi)

## REGOLAMENTI

## REGOLAMENTO (UE) N. 544/2011 DELLA COMMISSIONE

del 10 giugno 2011

recante disposizioni di attuazione del regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i requisiti relativi ai dati applicabili alle sostanze attive

(Testo rilevante ai fini del SEE)

LA COMMISSIONE EUROPEA,

91/414/CEE del Consiglio, del 15 luglio 1991, relativa all'immissione in commercio dei prodotti fitosanitari <sup>(2)</sup>.

visto il trattato sul funzionamento dell'Unione europea,

(2) Ai fini dell'attuazione del regolamento (CE) n. 1107/2009 occorre quindi adottare un regolamento che contenga tali requisiti relativi ai dati applicabili alle sostanze attive. Tale regolamento non deve includere modifiche sostanziali,

visto il 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 <sup>(1)</sup>, in particolare l'articolo 8, paragrafo 4, prima frase,

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

sentito il comitato permanente per la catena alimentare e la salute degli animali,

*Articolo 1*

I requisiti relativi ai dati per l'approvazione di una sostanza attiva di cui all'articolo 8, paragrafo 1, lettera b), del regolamento (CE) n. 1107/2009 figurano nell'allegato del presente regolamento.

considerando quanto segue:

*Articolo 2*

(1) A norma del regolamento (CE) n. 1107/2009, il fascicolo da presentare per l'approvazione di una sostanza attiva o per l'autorizzazione di un prodotto fitosanitario deve soddisfare i medesimi requisiti relativi ai dati applicabili al prodotto fitosanitario stabiliti dalle norme precedentemente applicabili di cui agli allegati II e III della direttiva

Il presente regolamento entra in vigore il ventesimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*.

Esso si applica a decorrere dal 14 giugno 2011.

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

Fatto a Bruxelles, il 10 giugno 2011.

*Per la Commissione*

*Il presidente*

José Manuel BARROSO

<sup>(1)</sup> GU L 309 del 24.11.2009, pag. 1.

<sup>(2)</sup> GU L 230 del 19.8.1991, pag. 1.

## ALLEGATO

**REQUISITI RELATIVI AI DATI APPLICABILI ALLE SOSTANZE ATTIVE DI CUI ALL'ARTICOLO 8, PARAGRAFO 1, LETTERA b), DEL REGOLAMENTO (CE) N. 1107/2009**

## INTRODUZIONE

1. Le informazioni richieste devono:
  - 1.1. comprendere un fascicolo tecnico che fornisca i dati necessari per valutare i prevedibili rischi, immediati o ritardati, che la sostanza attiva può comportare per l'uomo, per gli animali e per l'ambiente, e che contenga almeno la descrizione e i risultati degli studi cui viene fatto di seguito riferimento;
  - 1.2. ove del caso, essere ottenute applicando disciplinari per le prove nella versione più recentemente adottata, cui viene fatto riferimento o che sono descritti nel presente allegato; nel caso di studi avviati prima dell'entrata in vigore delle modifiche del presente allegato, le informazioni di cui trattasi devono essere ottenute applicando adeguati disciplinari per le prove convalidati a livello nazionale o internazionale, oppure, qualora non fossero disponibili, applicando disciplinari per le prove accettati dall'autorità competente;
  - 1.3. se un disciplinare per le prove è improprio o se non ne esiste una descrizione, oppure se è stato usato un disciplinare diverso da quello cui è fatto riferimento nel presente allegato, comprendere una giustificazione della scelta del disciplinare utilizzato che possa essere accettata dall'autorità competente; in particolare, qualora sia fatto riferimento nel presente allegato ad un metodo istituito dal regolamento (CE) n. 440/2008 della Commissione <sup>(1)</sup>, consistente nel recepimento di un metodo approntato da un organismo internazionale (ad esempio, l'OCSE), gli Stati membri possono accettare che le informazioni richieste siano ottenute in conformità dell'ultima versione di detto metodo se all'inizio degli studi in questione il metodo di cui al regolamento (CE) n. 440/2008 non sia ancora stato aggiornato;
  - 1.4. comprendere, ove l'autorità competente ne faccia richiesta, una descrizione esauriente del disciplinare usato per le prove, se non è menzionato o descritto nel presente allegato, e una descrizione esauriente di qualsivoglia differenziazione metodologica, corredata di una pertinente giustificazione che possa essere accettata dall'autorità competente;
  - 1.5. comprendere una relazione completa e obiettiva sugli studi svolti, con descrizione esauriente degli stessi, oppure una giustificazione che possa essere accettata dall'autorità competente, qualora:
    - non vengano forniti dati o informazioni particolari, superflui in considerazione della natura del prodotto o del proposto uso dello stesso, oppure
    - non sia scientificamente necessario o tecnicamente possibile fornire dati ed informazioni;
  - 1.6. ove del caso, essere state ottenute in osservanza ai requisiti della direttiva 86/609/CEE del Consiglio <sup>(2)</sup>.
2. **Prove e analisi**
  - 2.1. Le prove e le analisi intese ad ottenere dati sulle proprietà e/o sulla sicurezza per l'uomo, gli animali o l'ambiente devono essere effettuate in osservanza ai principi della direttiva 2004/10/CE del Parlamento europeo e del Consiglio <sup>(3)</sup>.
  - 2.2. In deroga al disposto del punto 2.1, gli Stati membri possono disporre che le prove e le analisi eseguite sul loro territorio e intese ad ottenere dati sulle proprietà e/o sulla innocuità delle sostanze attive per le api da miele e gli artropodi benefici diversi dalle api siano svolte da enti o organismi ufficiali o ufficialmente riconosciuti per l'esecuzione di tali prove o da organismi che soddisfino almeno i requisiti di cui ai punti 2.2 e 2.3 dell'introduzione dell'allegato del regolamento (UE) n. 545/2011 della Commissione <sup>(4)</sup>.

Tale deroga si applica alle prove effettivamente iniziate al più tardi il 31 dicembre 1999.
  - 2.3. In deroga al disposto del punto 2.1., gli Stati membri possono disporre che le prove controllate sui residui effettuate sul loro territorio a norma della sezione 6 «Residui in o su prodotti trattati, alimenti per l'uomo e per gli animali» con prodotti fitosanitari contenenti sostanze attive già sul mercato due anni dopo la notifica della direttiva 91/414/CEE siano svolte da enti od organismi ufficiali o ufficialmente riconosciuti per l'esecuzione di tali prove o da organismi che soddisfino almeno i requisiti di cui ai punti 2.2 e 2.3 dell'introduzione dell'allegato del regolamento (UE) n. 545/2011.

Tale deroga si applica alle prove controllate sui residui effettivamente iniziate al più tardi il 31 dicembre 1997.

<sup>(1)</sup> GU L 142 del 31.5.2008, pag. 1.

<sup>(2)</sup> GU L 358 del 18.12.1986, pag. 1.

<sup>(3)</sup> GU L 50 del 20.2.2004, pag. 44.

<sup>(4)</sup> Cfr. pagina 67 della presente Gazzetta ufficiale.

- 2.4. In deroga a quanto disposto al punto 2.1., per le sostanze attive costituite da microrganismi o virus, le prove e le analisi intese ad ottenere dati sulle proprietà e/o sulla sicurezza per quanto riguarda aspetti diversi dalla salute umana possono essere svolte da enti o organismi di laboratorio ufficiali o ufficialmente riconosciuti o da organismi che soddisfino almeno i requisiti di cui ai punti 2.2 e 2.3 dell'introduzione dell'allegato del regolamento (UE) n. 545/2011.

## PARTE A

## SOSTANZE CHIMICHE

1. **Identità della sostanza attiva**

Le informazioni fornite devono essere sufficienti a identificare con precisione ciascuna sostanza attiva e a definirne le caratteristiche e la natura. Le informazioni e i dati in questione sono necessari per tutte le sostanze attive, salvo in caso di indicazione diversa.

1.1. *Richiedente (nome, indirizzo, ecc.)*

Dev'essere indicato il nome e l'indirizzo del richiedente nonché il nome, la qualifica, i numeri di telefono e di fax della persona da contattare.

Inoltre, nel caso in cui il richiedente disponga di un ufficio, un'agenzia o una rappresentanza nello Stato membro al quale viene presentata la domanda di approvazione e nello Stato membro relatore incaricato dalla Commissione, se diverso dal primo, deve essere indicato il nome e l'indirizzo dell'ufficio locale, dell'agenzia o della rappresentanza, nonché il nome, la qualifica, il numero di telefono e di fax della persona da contattare.

1.2. *Fabbricante (nome, indirizzo, compresa l'ubicazione dello stabilimento)*

Deve essere indicato il nome e l'indirizzo del/dei fabbricante/i della sostanza attiva, nonché il nome e l'indirizzo di ogni stabilimento di produzione. È necessario indicare un punto di contatto (di preferenza un punto di contatto centrale, con nome, numero di telefono e di fax), che fornisca informazioni aggiornate e risponda ai quesiti riguardanti la tecnologia di produzione, i procedimenti di fabbricazione e la qualità del prodotto (ivi comprese, se del caso, partite singole). Nei casi in cui, a seguito all'approvazione della sostanza attiva, vi siano mutamenti nella sede o nel numero dei fabbricanti, le informazioni richieste devono essere nuovamente notificate alla Commissione e agli Stati membri.

1.3. *Nome comune proposto o accettato dall'ISO e sinonimi*

Dev'essere indicato il nome comune ISO, o proposto dall'ISO e, se del caso, altri nomi comuni proposti o accettati (sinonimi), ivi compreso il nome (qualifica) dell'autorità competente in materia di nomenclatura.

1.4. *Nome chimico (nomenclatura IUPAC e CA)*

Deve essere indicata la denominazione chimica di cui all'allegato VI del regolamento (CE) n. 1272/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio <sup>(1)</sup>, oppure, qualora non sia ivi incluso, la denominazione chimica conforme alla nomenclatura IUPAC e a quella CA.

1.5. *Numero(i) di codice (sigla sperimentale)*

È necessario indicare i numeri di codice usati per identificare, durante il processo di fabbricazione, la sostanza attiva e, ove disponibili, quelli utilizzati per identificare le formulazioni che la contengono. Per ogni numero di codice, è necessario indicare il materiale a cui esso si riferisce, il periodo in cui è stato usato e gli Stati membri o gli altri paesi nei quali è stato ed è tuttora usato.

1.6. *Numeri CAS, CE e CIPAC (se disponibili)*

È necessario indicare gli eventuali numeri del Chemical Abstracts, quelli CE (EINECS o ELINCS) e CIPAC.

1.7. *Formula molecolare e di struttura, massa molecolare*

È necessario indicare la formula molecolare, la massa molecolare e la formula di struttura della sostanza attiva e, se del caso, la formula di struttura di ogni stereoisomero e isomero ottico presenti nella sostanza attiva.

<sup>(1)</sup> GU L 353 del 31.12.2008, pag. 1.

1.8. *Metodo di fabbricazione (schema di sintesi) della sostanza attiva*

Per ciascun stabilimento di produzione, è necessario indicare il metodo di fabbricazione, precisando l'identità dei materiali di partenza, la sequenza di reazioni chimiche necessarie e l'identità dei sottoprodotti e delle impurezze presenti nel prodotto finale. In genere non sono necessarie informazioni sulla meccanica del procedimento.

Nei casi in cui le informazioni disponibili si riferiscano a un sistema di produzione pilota, esse dovranno essere nuovamente fornite una volta che siano stati definiti i metodi ed i procedimenti di produzione su scala industriale.

1.9. *Specificazione della purezza della sostanza attiva in g/kg*

È necessario indicare il tenore minimo in g/kg della sostanza attiva pura (esclusi gli isomeri inattivi) presente nel materiale usato per la fabbricazione di prodotti formulati.

Nei casi in cui le informazioni disponibili fornite si riferiscano ad un sistema di produzione pilota, esse dovranno essere nuovamente comunicate alla Commissione e agli Stati membri una volta che siano stati definiti metodi e procedimenti di produzione su scala industriale. Ciò vale se il cambiamento del sistema di produzione si traduce in una diversa specificazione della purezza.

1.10. *Identità degli isomeri, impurezze e additivi (ad esempio, agenti stabilizzanti), con relativa formula di struttura e tenore espresso in g/kg*

È necessario indicare il tenore massimo in g/kg degli isomeri inattivi, nonché, eventualmente, il rapporto tra il tenore di isomeri e quelli di diastereoisomeri. Deve essere inoltre indicato il tenore massimo in g/kg di ogni additivo e di ogni componente diverso dagli additivi, ivi compresi i sottoprodotti e le impurezze. Per gli additivi occorre specificare il tenore espresso in g/kg.

Per ogni componente, presente in quantitativi di almeno 1 g/kg è necessario fornire le seguenti informazioni, se del caso:

- nome chimico (nomenclatura IUPAC e CA),
- nome comune ISO, o proposto dall'ISO, se disponibile,
- numeri CAS, CE (EINECS o ELINCS) e CIPAC, se disponibili,
- formula molecolare e di struttura,
- massa molecolare,
- tenore massimo in g/kg.

Se dal procedimento di fabbricazione possono derivare impurezze e sottoprodotti nella sostanza attiva particolarmente indesiderabili dal punto di vista tossicologico, ecotossicologico o ambientale, è necessario determinare e indicare il tenore di ciascuna di queste sostanze. In siffatti casi, è necessario indicare i metodi d'analisi usati e i limiti di determinazione, che devono essere sufficientemente bassi per ciascuna delle sostanze non desiderate. Inoltre, è necessario fornire, all'occorrenza, le seguenti informazioni:

- nome chimico (nomenclatura IUPAC e CA),
- nome comune ISO, o proposto dall'ISO, se disponibile,
- numeri CAS, CE (EINECS o ELINCS) e CIPAC, se disponibili,
- formula molecolare e di struttura,
- massa molecolare,
- tenore massimo in g/kg.

Nei casi in cui le informazioni disponibili si riferiscano a un sistema di produzione pilota, esse dovranno essere nuovamente fornite una volta che siano stati definiti i metodi ed i procedimenti di produzione su scala industriale. Ciò vale se il cambiamento del sistema di produzione si traduce in una diversa specificazione della purezza.

Se le informazioni fornite non bastano a identificare pienamente un componente, specialmente i condensati, è necessario fornire informazioni dettagliate circa la composizione di ciascuno di questi componenti.

È necessario indicare altresì il nome commerciale degli additivi eventualmente aggiunti alla sostanza attiva, prima della fabbricazione del prodotto formulato, per proteggerne la stabilità e facilitarne la manipolazione. Se del caso, per siffatti additivi sono indispensabili le seguenti informazioni:

- nome chimico (nomenclatura IUPAC e CA),
- nome comune ISO, o proposto dall'ISO, se disponibile,
- numeri CAS, CE (EINECS o ELINCS) e CIPAC, se disponibili,
- formula molecolare e di struttura,
- massa molecolare,
- tenore massimo in g/kg.

Di questi additivi che vengono aggiunti e che sono diversi dalla sostanza attiva e dalle impurezze derivanti dal procedimento di fabbricazione, è necessario indicare la funzione:

- antischiuma,
- antigelo,
- legante,
- stabilizzante,
- tampone,
- emulsionante,
- altro (specificare).

#### 1.11. *Profilo analitico delle partite*

Campioni rappresentativi della sostanza attiva devono essere opportunamente analizzati per quanto riguarda il tenore di sostanza attiva pura, gli isomeri inattivi, le impurezze e gli additivi. I risultati analitici devono comprendere il tenore, espresso in g/kg, di tutti i componenti presenti in quantitativi superiori a 1 g/kg e che tipicamente costituiscono almeno il 98 % del materiale analizzato. Deve essere determinato il tenore effettivo di componenti particolarmente indesiderabili a causa delle loro proprietà tossicologiche, ecotossicologiche o dannose per l'ambiente. I dati indicati devono comprendere i risultati dell'analisi di campioni singoli e un riassunto, onde mettere in evidenza il tenore minimo o massimo e quello tipico di ogni componente che interessa.

Qualora la sostanza attiva sia prodotta in impianti differenti, tali informazioni devono essere specificate distintamente per ciascuno di tali impianti.

Inoltre, se del caso e ove possibile, devono essere analizzati campioni della sostanza attiva prodotti su scala di laboratorio o in sistemi di produzione pilota, se tale materiale è stato utilizzato per ottenere dati tossicologici o ecotossicologici.

## 2. **Proprietà fisiche e chimiche della sostanza attiva**

i) Devono essere descritte le proprietà fisiche e chimiche delle sostanze attive che, assieme ad altre informazioni pertinenti, serviranno a caratterizzare dette sostanze. In particolare, le informazioni fornite devono consentire:

- l'identificazione dei rischi di tipo fisico, chimico e tecnico connessi alle sostanze attive,
- la classificazione delle sostanze attive rispetto ai rischi,

- la scelta delle limitazioni e condizioni da rispettare ai fini delle approvazioni, e
- la definizione di indicazioni di pericolo e consigli di prudenza adeguati.

Le informazioni e i dati in questione sono necessari per tutte le sostanze attive, salvo in caso di indicazione diversa.

- ii) Le informazioni fornite, ivi comprese quelle riguardanti i preparati, devono consentire l'identificazione dei rischi di tipo fisico, chimico e tecnico connessi ai preparati stessi, la classificazione di detti preparati e la conclusione che essi possono essere usati senza inutili difficoltà. Essi devono essere tali da ridurre al minimo l'esposizione dell'uomo, degli animali e dell'ambiente nelle condizioni di impiego previste.
- iii) Dev'essere determinata la conformità delle sostanze attive per le quali è richiesta l'approvazione alle rispettive specifiche FAO. Eventuali divergenze dalle specifiche FAO devono essere dettagliate e giustificate.
- iv) Talvolta è necessario eseguire prove usando sostanze attive di specifica già stabilita; in questi casi devono essere riferiti i principi del metodo (o dei metodi) di purificazione. È necessario indicare la purezza del materiale di prova, che deve essere al miglior livello tecnologico ottenibile. Se il grado di purezza ottenuto è inferiore a 980 g/kg, è necessario giustificarne adeguatamente i motivi.

Da tale motivazione deve risultare che sono state esperite tutte le vie tecnicamente possibili e prospettabili di produzione della sostanza attiva pura.

#### 2.1. *Punto di fusione e punto di ebollizione*

- 2.1.1. Il punto di fusione, oppure ove opportuno quello di congelamento o di solidificazione della sostanza attiva pura, devono essere determinati e comunicati conformemente al metodo A1 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008. Devono essere effettuate misurazioni fino a 360 °C.
- 2.1.2. Se del caso, il punto di ebollizione di sostanze attive pure deve essere determinato e comunicato conformemente al metodo A2 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008. Devono essere effettuate misurazioni fino a 360 °C.
- 2.1.3. Se il punto di fusione e/o di ebollizione non possono essere determinati per motivi di decomposizione o di sublimazione, è necessario indicare la temperatura alla quale ha luogo detta composizione o sublimazione.

#### 2.2. *Densità relativa*

La densità relativa di sostanze attive, liquide o solide, pure deve essere determinata e comunicata conformemente al metodo A3 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008.

#### 2.3. *Tensione di vapore (in Pa), volatilità (ad esempio, costante della legge di Henry)*

- 2.3.1. Deve essere indicata la tensione di vapore della sostanza attiva pura, determinata conformemente al metodo A4 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008. Se la tensione di vapore è inferiore a  $10^{-5}$  Pa, la tensione di vapore a 20 o a 25 °C può essere stimata sulla base di una curva della tensione di vapore.
- 2.3.2. In caso di sostanze attive solide o liquide, la volatilità (costante della legge di Henry) della sostanza attiva pura deve essere dedotta o calcolata dalla sua solubilità in acqua e dalla tensione di vapore ed essere espressa in  $(\text{Pa} \times \text{m}^3 \times \text{mol}^{-1})$ .

#### 2.4. *Aspetto (stato fisico, colore e odore; se noti)*

- 2.4.1. Devono essere descritti l'eventuale colore e lo stato fisico della sostanza attiva prodotta e di quella pura.
- 2.4.2. Lo stesso vale per eventuali odori della sostanza attiva prodotta e di quella pura che fossero osservati durante la manipolazione dei materiali nei laboratori o negli stabilimenti di produzione.

#### 2.5. *Spettro di assorbimento (UV/VIS, IR, NMR, MS), estinzione molare e relative lunghezze d'onda*

- 2.5.1. È necessario determinare e indicare i seguenti spettri, aggiungendo una tabella di interpretazioni dei simboli: ultravioletto/visibile (UV/VIS), infrarosso (IR), risonanza magnetica nucleare (NMR) e spettrometria di massa (MS) della sostanza attiva pura ed estinzione molare alle rispettive lunghezze d'onda.

Occorre determinare ed indicare le lunghezze d'onda di estinzione molare UV/visibile nonché, se del caso, la lunghezza d'onda corrispondente al valore più elevato di assorbimento al di sopra di 290 nm.

In caso di sostanze attive isomeri ottici, è necessario misurarne e indicarne la purezza ottica.

2.5.2. Devono essere determinati e indicati gli spettri di assorbimento UV/visibile, IR, NMR e MS, se necessari per l'identificazione delle impurezze ritenute significative dal punto di vista tossicologico, ecotossicologico ed ambientale.

2.6. *Solubilità in acqua compresi gli effetti del pH (da 4 a 10) sulla solubilità*

Deve essere indicata la solubilità in acqua delle sostanze attive pure a pressione atmosferica, determinata con il metodo A6 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008. Queste determinazioni della solubilità in acqua devono essere effettuate in ambiente neutro (cioè in acqua distillata in equilibrio con l'anidride carbonica atmosferica). Nei casi in cui la sostanza attiva sia capace di formare ioni, le determinazioni devono essere effettuate altresì in ambiente acido (pH da 4 a 6) ed alcalino (pH da 8 a 10). Se la stabilità della sostanza attiva in ambiente acquoso non consente di determinare la solubilità in acqua, è necessario giustificarlo in base ai dati della prova.

2.7. *Solubilità nei solventi organici*

È necessario determinare e indicare la solubilità delle sostanze attive prodotte nei seguenti solventi organici a temperature comprese tra 15 e 25 °C se detta solubilità è inferiore a 250 g/kg, specificando la temperatura della prova:

- idrocarburo alifatico: di preferenza n-eptano,
- idrocarburo aromatico: di preferenza xilene,
- idrocarburo alogenato: di preferenza 1,2-dicloroetene,
- alcole: di preferenza metanolo o alcole isopropilico,
- chetone: di preferenza acetone,
- estere: di preferenza acetato di etile.

Se uno o più di questi solventi non sono adatti ad una data sostanza attiva (ad esempio reagiscono con il materiale di prova), possono essere usati solventi alternativi. In tal caso, la scelta deve essere giustificata in termini di struttura e polarità.

2.8. *Coefficiente di ripartizione n-ottanolo/acqua, compresi gli effetti del pH (da 4 a 10)*

Deve essere indicato il coefficiente di ripartizione n-ottanolo/acqua della sostanza attiva pura, determinato con il metodo A8 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008. Deve essere studiato l'effetto del pH (da 4 a 10) se la sostanza risulta acida o basica in base al suo valore pKa (< 12 per gli acidi, > 2 per le basi).

2.9. *Stabilità in acqua, tasso di idrolisi, degradazione fotochimica, rendimento quantico e identità del (dei) prodotto(i) di degradazione, costante di dissociazione a diversi pH (da 4 a 9)*

2.9.1. I tassi di idrolisi delle sostanze attive pure (di solito sostanza attiva radiomarcata, purezza > 95 %), per ciascuno dei valori pH 4, 7 e 9, in condizioni di sterilità, in assenza di luce, devono essere determinati e indicati con il metodo C7 del regolamento (CE) n. 440/2008. Per le sostanze aventi un basso tasso di idrolisi, detto tasso può essere determinato a 50 °C o ad altra temperatura opportuna.

Se la degradazione viene osservata a 50 °C, il tasso di degradazione deve essere determinato a un'altra temperatura ed è necessario costruire un diagramma di Arrhenius per poter stimare l'idrolisi a 20 °C. È necessario indicare l'identità dei prodotti di idrolisi formati, la costante di velocità di reazione osservata e il valore stimato TD<sub>50</sub>.

- 2.9.2. Per composti aventi un coefficiente di assorbimento molare (decadico) ( $\epsilon$ )  $> 10$  ( $1 \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ ) ad una lunghezza d'onda  $\lambda \geq 290$  nm, è necessario determinare e indicare la fototrasformazione diretta in acqua pura (ad esempio, distillata) ad una temperatura compresa tra 20 e 25 °C, della sostanza attiva purificata, di solito radiomarcata usando luce artificiale in condizioni di sterilità, se necessario usando un solubilizzante. Sostanze sensibilizzanti quali l'acetone non devono essere usate come co-solvente o solubilizzante. La fonte luminosa deve simulare la luce del sole ed essere provvista di filtri che escludano radiazioni a lunghezza d'onda  $\lambda < 290$  nm. È necessario indicare l'identità dei prodotti di degradazione che si formano in qualsiasi fase dello studio in quantitativi  $\geq 10$  % della sostanza attiva aggiunta, un bilancio di massa in ragione di almeno il 90 % della radioattività applicata, nonché l'emivita fotochimica.
- 2.9.3. Nel caso in cui sia necessario studiare la fototrasformazione diretta, è necessario determinare e indicare il rendimento quantico della fotodegradazione diretta in acqua, calcolando congiuntamente l'emivita della sostanza attiva nello strato superficiale dei sistemi acquosi e il periodo di vita effettivo della sostanza.

Il relativo metodo è descritto in FAO Revised Guidelines of Environmental Criteria for the Registration of Pesticides <sup>(1)</sup>.

- 2.9.4. Se si verifica la dissociazione in acqua, la costante (le costanti) di dissociazione (valori pKa) della sostanza attiva pura, deve (devono) essere indicata e determinata conformemente all'«OECD Test Guideline 112». È necessario identificare le specie dissociate formatesi, basandosi su considerazioni teoriche. Se la sostanza attiva è un sale, è necessario indicarne il valore pKa.

2.10. *Stabilità all'aria, degradazione fotochimica, identità del (dei) prodotto(i) di degradazione*

È necessario presentare una valutazione della degradazione fotochimica ossidativa (fototrasformazione indiretta) della sostanza attiva.

2.11. *Infiammabilità, compresa l'autoinfiammabilità*

- 2.11.1. L'infiammabilità delle sostanze attive prodotte, siano esse solide, gassose oppure sostanze che sviluppano gas ad elevata infiammabilità, deve essere determinata e indicata conformemente al metodo A10, A11 o A12 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008, a seconda dei casi.

- 2.11.2. L'autoinfiammabilità delle sostanze attive prodotte deve essere determinata conformemente al metodo A15 o A16 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008, a seconda dei casi, e/o, se necessario, alla prova «UN-Bowes-Cameron-Cage-Test» (UN-Recommendations on the Transport of Dangerous Goods, capitolo 14, n. 14.3.4).

2.12. *Punto di infiammabilità*

Il punto di infiammabilità delle sostanze attive prodotte con un punto di fusione al di sotto dei 40 °C deve essere definito e indicato conformemente al metodo A9 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008; sono ammessi unicamente metodi «a contenitore chiuso».

2.13. *Proprietà esplosive*

Per le sostanze attive prodotte, le proprietà esplosive devono essere definite, se del caso, conformemente al metodo A14 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008.

2.14. *Tensione superficiale*

La tensione superficiale deve essere definita e indicata conformemente al metodo A5 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008.

2.15. *Proprietà ossidanti*

Le proprietà ossidanti delle sostanze attive prodotte devono essere determinate e indicate conformemente al metodo A17 di cui al regolamento (CE) n. 440/2008, salvo nei casi in cui dall'esame della formula di struttura risulti con una certa sicurezza che la sostanza attiva è incapace di reazioni esotermiche con materiale combustibile. In quest'ultimo caso questa informazione è sufficiente a giustificare la mancata determinazione delle proprietà ossidanti della sostanza attiva.

<sup>(1)</sup> Organizzazione delle Nazioni Unite per l'alimentazione e l'agricoltura (FAO), Roma, dicembre 1989. <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/Code/Download/ENVICRI.pdf>.

### 3. Altre informazioni sulla sostanza attiva

- i) È necessario precisare le finalità, la dose e le modalità d'impiego effettive o proposte dei preparati contenenti la sostanza attiva.
- ii) Le informazioni fornite devono specificare i normali metodi e le normali precauzioni di manipolazione, conservazione e trasporto della sostanza attiva.
- iii) Gli studi, i dati e le informazioni presentati, con il supporto di altri opportuni studi, dati ed informazioni connessi, devono specificare e giustificare i metodi e le precauzioni da seguire in caso di incendio; devono essere previsti, sempre in caso di incendio, gli eventuali prodotti di combustione, sulla base della struttura chimica e delle proprietà fisico-chimiche della sostanza attiva.
- iv) Gli studi, i dati e le informazioni presentati, con il supporto di altri opportuni studi, dati e informazioni, devono dimostrare l'idoneità delle misure proposte ad affrontare eventuali situazioni di emergenza.
- v) Le informazioni e i dati in questione sono necessari per tutte le sostanze attive, salvo in caso di indicazione diversa.

#### 3.1. Attività (*ad esempio, fungicida, diserbante, insetticida, repellente, regolatore della crescita*)

La funzione del prodotto dev'essere indicata usando una delle seguenti definizioni:

- acaricida,
- battericida,
- fungicida,
- diserbante,
- insetticida,
- molluschicida,
- nematicida,
- fitoregolatore,
- repellente
- rodenticida,
- semiochimici,
- talpicida,
- viricida,
- altro (specificare).

#### 3.2. Effetti sugli organismi nocivi (*ad esempio veleno per contatto, per inalazione, per ingestione, micotossico ecc.; sistemico o no nelle piante*)

##### 3.2.1. Deve essere indicata la natura degli effetti sugli organismi nocivi:

- azione per contatto,
- azione per ingestione,
- azione per inalazione,
- azione micotossica,
- azione micostatica,

- azione essiccante,
  - inibizione della riproduzione,
  - altro (specificare).
- 3.2.2. È necessario stabilire se la sostanza attiva si trasferisce o meno nelle piante e, se del caso, se siffatto trasferimento sia apoplastico, simplastico o entrambi.
- 3.3. *Campi di impiego previsti, ad esempio in campo, in colture protette (serra), per la conservazione di prodotti vegetali, per giardinaggio domestico*
- Il campo o i campi di impiego, attuali e proposti, per i preparati contenenti la sostanza attiva devono essere specificati scegliendoli tra i seguenti:
- uso in campo, quale agricoltura, orticoltura, silvicoltura e viticoltura,
  - impiego in colture protette (serra),
  - impiego in aree di svago (parchi pubblici, ecc.),
  - diserbante in zone non coltivate,
  - impiego in giardinaggio domestico,
  - per piante da interni,
  - impiego per la conservazione di prodotti vegetali,
  - altri (specificare).
- 3.4. *Organismi nocivi controllati e colture o prodotti protetti o trattati*
- 3.4.1. È necessario precisare l'impiego attuale e previsto in termini di colture, gruppi di colture, vegetali o prodotti vegetali trattati e, se del caso, protetti.
- 3.4.2. Se del caso, è necessario precisare gli organismi nocivi sui quali agisce il prodotto.
- 3.4.3. Se del caso, è necessario indicare gli effetti ottenuti, ad esempio eliminazione dei germogli, ritardo della maturazione, riduzione della lunghezza dei gambi, miglioramento della fertilizzazione, ecc.
- 3.5. *Meccanismo di azione*
- 3.5.1. È necessario descrivere il meccanismo d'azione, se noto, della sostanza attiva in termini, se del caso, di meccanismo(i) biochimico(i) e fisiologico(i) e di vie biochimiche che intervengono. Se disponibili, devono essere riportati i risultati dei relativi studi sperimentali.
- 3.5.2. Se è noto che, per dare gli effetti voluti, la sostanza attiva si deve trasformare in un metabolita o in un prodotto di degradazione dopo l'applicazione o l'uso di preparati che la contengono, è necessario fornire, su detto metabolita attivo o prodotto di degradazione, le seguenti informazioni in connessione con quelle di cui ai paragrafi 5.6, 5.11, 6.1, 6.2, 6.7, 7.1, 7.2 e 9:
- nome chimico (nomenclatura IUPAC e CA),
  - nome comune ISO, o proposto dall'ISO,
  - numeri CAS, CE (EINECS o ELINCS) e CIPAC, se disponibili,
  - formula empirica e di struttura,
  - massa molecolare.

3.5.3. Sulla formazione dei metaboliti attivi e dei prodotti di degradazione è necessario fornire informazioni che comprendano:

- i procedimenti, i meccanismi e le reazioni che intervengono,
- i dati cinetici e di altro tipo riguardanti il tasso di conversione e, se noto, il sistema per limitare detto tasso,
- fattori ambientali e di altro tipo che influenzano il tasso e il grado di conversione.

3.6. *Informazioni sull'eventuale sviluppo di resistenza e appropriate strategie di prevenzione*

È necessario fornire informazioni sull'eventuale sviluppo di resistenza o resistenza incrociata, se disponibili.

3.7. *Metodi e precauzioni raccomandati per la manipolazione, il magazzinaggio, il trasporto o in caso di incendio*

Per tutte le sostanze attive è necessario fornire una scheda di dati di sicurezza a norma dell'articolo 31 del regolamento (CE) n. 1907/2006 del Parlamento europeo e del Consiglio <sup>(1)</sup>.

3.8. *Metodi di distruzione o di decontaminazione*

3.8.1. **Incenerimento controllato**

In parecchi casi il sistema preferibile, oppure l'unico possibile per uno smaltimento sicuro di sostanze attive, materiali o imballaggi contaminati, consiste nell'incenerimento controllato effettuato in un inceneritore autorizzato.

Se il tenore di alogeni contenuti nella sostanza attiva è superiore al 60 %, è necessario indicare il comportamento pirolitico della sostanza attiva in condizioni controllate (ivi inclusi, se del caso, la produzione di ossigeno ed il tempo di permanenza) a 800 °C, nonché il tenore di dibenzo-p-diossine e dibenzofurani polialogenati nei prodotti di pirolisi. Il richiedente deve fornire istruzioni dettagliate ai fini di una eliminazione sicura delle sostanze in questione.

3.8.2. **Altri**

È necessario descrivere accuratamente altri metodi per lo smaltimento di sostanze attive, imballaggi e materiali contaminati, e fornire dati atti a determinare l'efficacia e la sicurezza di siffatti metodi.

3.9. *Misure di emergenza in caso di incidente*

Devono essere specificati i metodi di decontaminazione dell'acqua in caso di incidente.

4. **Metodi analitici**

*Introduzione*

Il presente capitolo verte esclusivamente sui metodi analitici richiesti per il controllo post-registrazione e per la sorveglianza.

Per i metodi analitici impiegati ai fini dell'elaborazione di dati, in conformità del presente regolamento, o per altri scopi, il richiedente deve giustificare il metodo utilizzato; se necessario verranno messe a punto apposite istruzioni per questo tipo di metodi sulla base degli stessi requisiti prescritti per i metodi impiegati a fini di controllo post-registrazione e di sorveglianza.

Devono essere fornite descrizioni di metodi comprendenti informazioni particolareggiate sulle attrezzature e i materiali utilizzati e le condizioni necessarie.

Ove possibile, questi metodi devono essere semplici, economici e basati sull'impiego di attrezzature comunemente disponibili.

<sup>(1)</sup> GU L 396 del 30.12.2006, pag. 1.

Ai fini della presente sezione si applicano le seguenti definizioni:

Impurezze, metaboliti, metaboliti rilevanti	Come definiti nel regolamento (CE) n. 1107/2009
Impurezze rilevanti	Impurezze aventi rilevanza tossicologica e/o ecotossicologica o ambientale
Impurezze significative	Impurezze contenute nella sostanza attiva prodotta in ragione di $\geq 1$ g/kg

Devono essere forniti, su richiesta, i seguenti campioni:

- i) norme di analisi della sostanza attiva pura;
- ii) campioni della sostanza attiva prodotta;
- iii) norme di analisi dei metaboliti rilevanti e/o di altri componenti compresi nella definizione di residuo;
- iv) se disponibili, campioni delle sostanze di riferimento delle impurezze rilevanti.

#### 4.1. *Metodi per l'analisi della sostanza attiva prodotta*

Si applicano in merito le seguenti definizioni:

##### i) Specificità

La specificità è la capacità di un metodo di distinguere dalle altre la sostanza oggetto dell'analisi.

##### ii) Linearità

Per linearità si intende la capacità del metodo, in una data gamma, di ottenere una correlazione lineare accettabile tra i risultati e la concentrazione della sostanza da analizzare nei campioni.

##### iii) Accuratezza

L'accuratezza di un metodo è il grado in cui il valore determinato della sostanza da analizzare in un campione corrisponde al valore di riferimento accettato (ad esempio in riferimento a ISO 5725).

##### iv) Precisione

La precisione è la concordanza tra risultati di prove indipendenti ottenuti nelle condizioni prescritte.

Ripetibilità: precisione in condizioni di ripetibilità, cioè in condizioni in cui i risultati di prove indipendenti sono ottenuti con lo stesso metodo su materiale di prova identico, nello stesso laboratorio, dallo stesso operatore con la stessa attrezzatura in brevi intervalli di tempo.

La riproducibilità non è richiesta per la sostanza attiva prodotta (per la definizione di riproducibilità cfr. ISO 5725).

- 4.1.1. Devono essere forniti e descritti per intero i metodi per la determinazione della sostanza attiva pura nella sostanza attiva prodotta, conformemente alla specifica presentata a corredo della domanda di approvazione. Deve essere segnalata l'applicabilità di metodi CIPAC esistenti.
- 4.1.2. Devono essere indicati anche i metodi per la determinazione, nella sostanza attiva prodotta, di impurezze significative e/o rilevanti e di additivi (ad esempio agenti stabilizzanti).
- 4.1.3. Specificità, linearità, accuratezza e ripetibilità
- 4.1.3.1. Deve essere dimostrata e indicata la specificità dei metodi presentati. Dev'essere inoltre determinato il grado d'interferenza di altre sostanze presenti nella sostanza attiva prodotta (ad esempio isomeri, impurezze o additivi).

Mentre le interferenze dovute ad altre componenti possono essere identificate come errori sistematici nella valutazione dell'accuratezza dei metodi proposti per la determinazione della sostanza attiva pura nella sostanza attiva prodotta, si deve fornire una spiegazione per ogni eventuale interferenza riscontrata che contribuisca per più del  $\pm 3\%$  alla quantità totale determinata. Il grado di interferenza deve essere calcolato anche per i metodi di determinazione delle impurezze.

- 4.1.3.2. Deve essere determinata e indicata la linearità dei metodi proposti su un intervallo adeguato. Per la determinazione della sostanza attiva pura, l'intervallo di calibrazione deve estendere (di almeno il 20 %) il tenore nominale più elevato e più basso della sostanza da analizzare nelle soluzioni analitiche pertinenti. Le doppie calibrazioni devono essere effettuate in 3 o più concentrazioni. Alternativamente, sono accettabili 5 concentrazioni, ciascuna come misura unica. Le relazioni presentate devono includere l'equazione della linea di calibrazione ed il coefficiente di correlazione, nonché la documentazione dell'analisi rappresentativa e correttamente etichettata, ad esempio i cromatogrammi.
- 4.1.3.3. L'accuratezza è richiesta per i metodi di determinazione della sostanza attiva pura e delle impurezze significative e/o rilevanti nella sostanza attiva prodotta.
- 4.1.3.4. Per la ripetibilità nella determinazione della sostanza attiva pura, in linea di massima occorre un minimo di 5 determinazioni. Deve essere indicata la deviazione standard relativa (% RSD). I valori fuori scala identificati per mezzo di un metodo appropriato (ad esempio Dixon o Grubbs) possono essere eliminati. L'eliminazione dei valori fuori scala deve essere chiaramente indicata. Si tenterà di spiegare perché si sono verificati singoli valori fuori scala.
- 4.2. *Metodi per la determinazione dei residui*

I metodi devono essere atti a determinare la sostanza attiva e/o i metaboliti rilevanti. Per ogni metodo e per ogni matrice rappresentativa rilevante, si devono determinare in via sperimentale e indicare la specificità, la precisione, il recupero ed il limite di determinazione.

In linea di massima, i metodi proposti per la determinazione dei residui devono essere metodi multiresiduo. Un metodo multiresiduo standard deve essere valutato e indicato come idoneo alla determinazione dei residui. Se i metodi proposti non sono metodi multiresiduo, o non sono compatibili con tali metodi, dovrà essere proposto un metodo alternativo. Qualora ne consegua un eccesso di metodi per i singoli composti, potrà essere accettato un «metodo medio comune».

Ai fini di questa sezione si applicano le seguenti definizioni:

i) *Specificità*

La specificità è la capacità di un metodo di distinguere dalle altre la sostanza oggetto dell'analisi.

ii) *Precisione*

La precisione è la concordanza tra risultati di prove indipendenti ottenuti nelle condizioni prescritte.

Ripetibilità: precisione in condizioni di ripetibilità, cioè in condizioni in cui i risultati di prove indipendenti sono ottenuti con lo stesso metodo su materiale di prova identico, nello stesso laboratorio, dallo stesso operatore con la stessa attrezzatura in brevi intervalli di tempo.

Riproducibilità: poiché la riproducibilità, quale definita nelle pubblicazioni pertinenti (ad esempio in ISO 5725) non è in generale applicabile ai metodi per la determinazione dei residui, la riproducibilità nel contesto del presente regolamento implica una convalida della ripetibilità del recupero, da matrici rappresentative e a livelli rappresentativi, da parte di almeno un laboratorio indipendente da quello che aveva convalidato inizialmente lo studio (questo laboratorio indipendente può tuttavia appartenere alla stessa società) (convalida indipendente in laboratorio).

iii) *Recupero*

Per recupero si intende la percentuale di sostanza attiva o di metabolita rilevante originariamente aggiunta ad un campione, della matrice appropriata, che non contenga un livello misurabile della sostanza da analizzare.

iv) Limite di determinazione

Il limite di determinazione (spesso designato come limite di quantificazione) è la minima concentrazione di sostanza da analizzare alla quale si ha un recupero medio accettabile (normalmente il 70-110 % con una deviazione standard relativa preferibilmente  $\leq 20$  %). In certi casi giustificati possono essere accettati tassi di recupero medi inferiori o superiori nonché una deviazione standard relativa più elevata).

4.2.1. Residui in o su vegetali, prodotti vegetali, prodotti alimentari (di origine vegetale e animale), alimenti per animali

I metodi presentati devono essere idonei alla determinazione di tutti i componenti che rientrano nella definizione di residuo presentata conformemente ai punti 6.1 e 6.2, affinché gli Stati membri possano accertare il rispetto degli LMR stabiliti o determinare i residui eliminabili.

La specificità dei metodi deve permettere di determinare tutti i componenti che rientrano nella definizione di residuo, se necessario con un metodo di conferma supplementare.

La ripetibilità deve essere determinata e indicata. Le porzioni analitiche identiche per la prova possono essere preparate in base ad un campione comune trattato sul terreno, contenente i residui riscontrati. In via alternativa, le porzioni analitiche identiche possono essere preparate in base ad un campione comune non trattato, con aliquote arricchite nella misura richiesta.

Devono essere indicati i risultati di una convalida ad opera di un laboratorio indipendente.

Il limite di determinazione, compreso il recupero individuale e medio, deve essere determinato e indicato. La deviazione standard relativa globale, come pure la deviazione standard relativa per ogni livello di arricchimento devono essere determinate in via sperimentale e riferite.

4.2.2. Residui nel suolo

Devono essere presentati i metodi di analisi del suolo per il composto originario e/o i metaboliti rilevanti.

La specificità dei metodi deve permettere di determinare il composto originario e/o i metaboliti rilevanti, se necessario con un metodo di conferma supplementare.

La ripetibilità, il recupero ed il limite di determinazione, compresi il recupero individuale e quello medio, devono essere determinati e indicati. La deviazione standard relativa globale, come pure la deviazione standard relativa per ogni livello di arricchimento devono essere determinate in via sperimentale e riferite.

Il limite di determinazione proposto non deve superare una concentrazione allarmante in caso di esposizione di organismi non bersaglio o per eventuali effetti fitotossici. Di norma, il limite di determinazione proposto non deve essere superiore a 0,05 mg/kg.

4.2.3. Residui nell'acqua (compresa l'acqua potabile, le acque sotterranee e le acque superficiali)

Devono essere presentati i metodi di analisi dell'acqua per il composto originario e/o i metaboliti rilevanti.

La specificità dei metodi deve permettere di determinare il composto originario e/o i metaboliti rilevanti, se necessario con un metodo di conferma supplementare.

La ripetibilità, il recupero ed il limite di determinazione, compresi il recupero individuale e quello medio, devono essere determinati e indicati. La deviazione standard relativa globale, come pure la deviazione standard relativa per ogni livello di arricchimento devono essere determinate in via sperimentale e riferite.

Il limite di determinazione proposto per l'acqua potabile non deve superare 0,1 µg/l. Per le acque superficiali, esso non deve superare una concentrazione i cui effetti sugli organismi non bersaglio siano considerati inaccettabili in base ai requisiti di cui all'allegato del regolamento (UE) n. 546/2011 <sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Cfr. pagina 127 della presente Gazzetta ufficiale.

#### 4.2.4. Residui nell'aria

Devono essere indicati i metodi per la determinazione della sostanza attiva e/o dei metaboliti rilevanti, formatisi durante o poco dopo l'applicazione, nell'aria, a meno che non si possa dimostrare l'improbabilità dell'esposizione di operatori o altre persone presenti.

La specificità dei metodi deve permettere di determinare il composto originario e/o i metaboliti rilevanti, se necessario con un metodo di conferma supplementare.

La ripetibilità, il recupero ed il limite di determinazione, compresi il recupero individuale e quello medio, devono essere determinati e indicati. La deviazione standard relativa globale, come pure la deviazione standard relativa per ogni livello di arricchimento devono essere determinate in via sperimentale e riferite.

Il limite di determinazione proposto deve tenere conto dei valori limite basati su considerazioni sanitarie o del livello di esposizione pertinente.

#### 4.2.5. Residui nei liquidi fisiologici e nei tessuti

Quando una sostanza attiva è classificata come tossica o molto tossica, si devono presentare metodi di analisi adatti.

La specificità dei metodi deve permettere di determinare il composto originario e/o i metaboliti rilevanti, se necessario con un metodo di conferma supplementare.

La ripetibilità, il recupero ed il limite di determinazione, compresi il recupero individuale e quello medio, devono essere determinati e indicati. La deviazione standard relativa globale, come pure la deviazione standard relativa per ogni livello di arricchimento devono essere determinate in via sperimentale e riferite.

### 5. Studi tossicologici e sul metabolismo

#### *Introduzione*

i) Le informazioni fornite, insieme con quelle precisate per uno o più preparati contenenti la sostanza attiva, devono essere tali da consentire una valutazione dei rischi per l'uomo associati alla manipolazione e all'utilizzazione di prodotti fitosanitari contenenti la sostanza attiva, nonché il rischio per l'uomo derivante da tracce residue negli alimenti e nell'acqua. Inoltre, le informazioni fornite devono essere sufficienti per:

- poter decidere se la sostanza attiva possa essere approvata o meno,
- specificare le opportune condizioni o limitazioni a cui subordinare l'eventuale approvazione,
- classificare la sostanza attiva in base alla sua pericolosità,
- stabilirne il livello di assunzione giornaliera ammissibile per l'uomo (DGA),
- stabilirne i livelli di esposizione ammissibili per gli operatori (AOEL),
- specificare i pittogrammi, le avvertenze, le indicazioni di pericolo e i consigli di prudenza ai fini della protezione dell'uomo, degli animali e dell'ambiente, da apporre sull'imballaggio (contenitori),
- precisare le misure di pronto soccorso e le opportune misure diagnostiche e terapeutiche in caso di avvelenamento nell'uomo,
- poter valutare la natura e il grado dei rischi per l'uomo, per gli animali (specie normalmente alimentate e allevate o le cui carni sono consumate dall'uomo) nonché dei rischi per altre specie di vertebrati non bersaglio.

ii) Occorre ricercare e indicare tutti i possibili effetti nocivi riscontrati negli studi tossicologici di routine (ivi inclusi gli effetti su organi e su sistemi speciali quali l'immunosensibilità e la neurotossicità); occorre effettuare ed indicare tali studi supplementari che possono essere necessari per individuare il probabile meccanismo coinvolto, stabilire i NOAELS (livelli a cui non sono stati osservati effetti dannosi) e valutare l'importanza di questi effetti. Devono essere indicati tutti i dati e le informazioni di ordine biologico disponibili e utili per valutare il profilo tossicologico della sostanza.

- iii) Per quanto riguarda la possibile incidenza delle impurezze sul comportamento tossicologico è essenziale che in ogni studio presentato venga fatta una descrizione particolareggiata (specifiche) del materiale utilizzato, come indicato al punto 1.11 della parte A. Le prove devono essere effettuate utilizzando la sostanza attiva conforme alle specifiche da applicare nella produzione dei preparati da autorizzare, eccetto il caso in cui sia necessaria o consentita l'utilizzazione di materiale radiomarcato.
- iv) Se gli studi vengono svolti utilizzando una sostanza attiva prodotta in laboratorio o in un sistema di produzione di un impianto pilota, gli studi devono essere ripetuti utilizzando la sostanza attiva prodotta, a meno che si possa dimostrare che il materiale di prova utilizzato sia sostanzialmente lo stesso ai fini della prova e della valutazione tossicologica. In caso di incertezza devono essere presentati appropriati studi di connessione in base ai quali si possa decidere se sia necessario ripetere gli studi.
- v) Nel caso di studi in cui la somministrazione si protragga nel tempo, si deve utilizzare preferibilmente una singola partita di sostanza attiva, se la stabilità lo permette.
- vi) In tutti gli studi deve essere indicata la dose reale massima somministrata, espressa in mg/kg di peso corporeo e in altre unità adeguate. Se le dosi vengono somministrate con la dieta, la sostanza in esame deve essere distribuita in modo uniforme nella dieta.
- vii) Se, a seguito del metabolismo o di altri processi in o su piante trattate oppure a seguito della trasformazione di prodotti trattati, il residuo finale [a cui saranno esposti i consumatori o i lavoratori, come definito nella parte A, punto 7.2.3, dell'allegato del regolamento (UE) n. 545/2011] contiene sostanze diverse dalla sostanza attiva stessa e non identificate come metaboliti presenti nei mammiferi, occorrerà effettuare studi di tossicità su questi componenti del residuo finale, a meno che si possa dimostrare che l'esposizione dei consumatori o dei lavoratori a queste sostanze non costituisce un rischio considerevole per la salute. Occorre effettuare studi di tossicocinetica e sul metabolismo dei metaboliti e dei prodotti di degradazione solo se non è possibile valutare le conclusioni sulla tossicità del metabolita sulla base dei risultati disponibili sulla sostanza attiva.
- viii) La scelta della via di somministrazione della sostanza in esame dipende dalle principali vie di esposizione. Nel caso in cui l'esposizione avviene essenzialmente in fase gassosa, può essere più adeguato effettuare studi di assorbimento per via inalatoria anziché per via orale.

#### 5.1. *Studi sull'assorbimento, sulla distribuzione, sull'escrezione e sul metabolismo nei mammiferi*

In quest'ambito sono necessari soltanto dati abbastanza limitati, come descritto in appresso, e su di una sola specie animale (normalmente il ratto). Questi dati possono fornire utili informazioni per l'organizzazione e l'interpretazione delle prove successive di tossicità. Tuttavia, occorre tener presente che i dati sulle differenze interspecie possono essere essenziali nelle estrapolazioni dall'animale all'uomo e che le informazioni sulla penetrazione dermica, sull'assorbimento, sulla distribuzione, sull'escrezione e sul metabolismo possono essere utili ai fini delle valutazioni del rischio per gli operatori. Non è possibile specificare requisiti particolareggiati per ciascun settore poiché i requisiti specifici dipenderanno dai risultati ottenuti per ciascuna particolare sostanza in esame.

##### Scopo della prova

Le prove devono fornire dati sufficienti per poter:

- valutare il tasso e il grado di assorbimento,
- valutare la distribuzione tissutale nonché il tasso e il livello dell'escrezione della sostanza e dei suoi metaboliti rilevanti,
- identificare i metaboliti e la via metabolica.

Occorrere inoltre studiare l'effetto delle dosi su questi parametri ed analizzare se i risultati differiscono in caso di somministrazione unica o ripetuta della dose.

##### Circostanze di necessità delle prove

Occorre svolgere, riportandone i risultati, uno studio tossicocinetico di somministrazione in dose unica nel ratto (per via orale) ad almeno due livelli di dosaggio nonché uno studio tossicocinetico di somministrazione in dosi ripetute nel ratto (per via orale) ad un solo livello di dosaggio. Può essere necessario, in taluni casi, effettuare studi supplementari su un'altra specie (ad esempio, capra o pollo).

#### Disciplinare per la prova

Regolamento (CE) n. 440/2008 metodo B36, tossicocinetica.

#### 5.2. Tossicità acuta

Gli studi e i dati da fornire per la valutazione devono essere sufficienti per poter individuare gli effetti di una esposizione unica alla sostanza attiva e, in particolare, stabilire o indicare:

- la tossicità della sostanza attiva,
- il decorso e le caratteristiche degli effetti, con dettagli completi sui mutamenti comportamentali ed eventuali reperti macropatologici post mortem,
- ove possibile, il modo dell'azione tossica,
- il rischio relativo inerente alle diverse vie di esposizione.

Sebbene l'interesse principale debba riguardare la possibilità di valutare i livelli di tossicità, i dati ottenuti devono anche consentire di classificare la sostanza attiva in conformità del regolamento (CE) n. 1272/2008. I dati ottenuti dai test di tossicità acuta sono di particolare utilità per valutare i possibili rischi conseguenti ad incidenti.

#### 5.2.1. Orale

##### *Circostanze di necessità delle prove*

Deve sempre essere indicata la tossicità acuta per via orale della sostanza attiva.

##### *Disciplinare per le prove*

La prova deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B1 bis o B1 ter.

#### 5.2.2. Cutanea

##### *Circostanze di necessità delle prove*

Deve sempre essere indicata la tossicità cutanea acuta della sostanza attiva.

##### *Disciplinare per le prove*

Devono essere studiati gli effetti sia locali che sistemici. La prova deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B3.

#### 5.2.3. Inalazione

##### *Circostanze di necessità delle prove*

Deve essere indicata la tossicità inalatoria della sostanza attiva quando quest'ultima:

- è un gas o un gas liquefatto,
- deve essere utilizzata come fumigante,
- deve essere incorporata in un preparato fumigante o aerosol o di vapore,
- deve essere utilizzata con apparecchiature di nebulizzazione,
- ha una pressione di vapore  $> 1 \times 10^{-2}$  Pa e deve essere incorporata in preparati che vengono utilizzati in spazi chiusi, come serre o magazzini,
- deve essere incorporata in preparati costituiti da polveri contenenti una considerevole percentuale di particelle di diametro  $< 50 \mu\text{m}$  ( $> 1\%$  in peso),
- deve essere incorporata in preparati che, quando vengono utilizzati, producono una considerevole percentuale di particelle o goccioline di diametro  $< 50 \mu\text{m}$  ( $> 1\%$  in peso).

*Disciplinare per le prove*

La prova deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B2.

## 5.2.4. Irritazione cutanea

*Scopo delle prove*

La prova deve condurre a stabilire l'irritabilità cutanea della sostanza attiva ed anche l'eventuale reversibilità degli effetti osservati.

*Circostanze di necessità delle prove*

Deve essere determinata l'irritabilità cutanea della sostanza attiva, salvo nel caso in cui è probabile, come indicato nel disciplinare per le prove, che si possano produrre gravi effetti cutanei o che si possano escludere effetti.

*Disciplinare per le prove*

La prova di irritazione cutanea acuta deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B4.

## 5.2.5. Irritazione oculare

*Scopo delle prove*

La prova deve poter stabilire l'irritabilità oculare della sostanza attiva e l'eventuale reversibilità degli effetti osservati.

*Circostanze di necessità delle prove*

La prova di irritabilità oculare deve essere effettuata salvo nel caso in cui risulta probabile, come indicato nel disciplinare per le prove, che si possano produrre gravi effetti sugli occhi.

*Disciplinare per le prove*

La prova di irritazione oculare acuta deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B5.

## 5.2.6. Sensibilizzazione cutanea

*Scopo della prova*

La prova deve fornire dati sufficienti per poter valutare la probabilità che la sostanza attiva provochi reazioni di sensibilizzazione cutanea.

*Circostanze di necessità delle prove*

La prova deve essere effettuata sempre, salvo se la sostanza è un noto sensibilizzante.

*Disciplinare per le prove*

La prova deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B6.

## 5.3. Tossicità a breve termine

Devono essere approntati studi sulla tossicità a breve termine che forniscano dati sulla quantità tollerabile di sostanza attiva senza effetti tossici nelle condizioni dello studio. Questi studi forniscono dati utili sui rischi per i manipolatori e gli utilizzatori di preparati contenenti la sostanza attiva. In particolare, gli studi di tossicità a breve termine forniscono un quadro essenziale delle eventuali azioni cumulative della sostanza attiva e sui rischi per i lavoratori che vi possono essere esposti intensivamente. Da questi studi si ottengono inoltre utili informazioni per la programmazione di studi sulla tossicità cronica.

Gli studi e i dati da fornire per la valutazione devono essere sufficienti per poter individuare gli effetti dell'esposizione ripetuta e, in particolare, stabilire o indicare

— il rapporto tra dose ed effetti nocivi,

— la tossicità della sostanza attiva, ivi incluso, se possibile, il NOAEL,

- se del caso, gli organi bersaglio,
- il decorso e le caratteristiche dell'avvelenamento con dettagli completi sui mutamenti comportamentali e le eventuali constatazioni patologiche post mortem,
- gli effetti tossici specifici e le modificazioni patologiche prodotte,
- se del caso, la persistenza e la reversibilità di taluni effetti tossici osservati, dopo sospensione del dosaggio,
- ove possibile, il modello dell'azione tossica, e
- il rischio relativo inerente alle diverse vie di esposizione.

#### 5.3.1. Studio di tossicità orale a 28 giorni

##### *Circostanze di necessità delle prove*

Gli studi a breve termine a 28 giorni, sebbene non obbligatori, possono essere utili come prova circa l'estensione del campo d'interesse. Qualora vengano effettuati, i relativi risultati devono essere indicati poiché potrebbero essere di particolare utilità per l'individuazione di risposte adattative eventualmente mascherate negli studi di tossicità cronica.

##### *Disciplinare per le prove*

La prova deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B7.

#### 5.3.2. Studio di tossicità orale a 90 giorni

##### *Circostanze di necessità delle prove*

Deve sempre essere riportata la tossicità orale a breve termine (90 giorni) della sostanza attiva sul ratto e sul cane. Qualora risulti che il cane è considerevolmente più sensibile e che probabilmente tali dati sono utili nell'estrapolazione dei risultati all'uomo, occorre effettuare uno studio di tossicità a 12 mesi sul cane e riportarne i risultati.

##### *Disciplinare per le prove*

Allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodi B26 e B27, test di tossicità orale subcronica studio della tossicità orale con somministrazione ripetuta di dosi per 90 giorni.

#### 5.3.3. Altre vie

##### *Circostanze di necessità delle prove*

Per la valutazione dell'esposizione degli operatori possono risultare utili altri studi di tossicità percutanea.

Per le sostanze volatili (pressione di vapore  $> 10^{-2}$  Pa) occorre il parere di esperti per decidere se gli studi a breve termine debbano essere effettuati con esposizione per via orale o inalatoria.

##### *Disciplinare per le prove*

- dermica, a 28 giorni: allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B9, tossicità a dose ripetuta per via cutanea,
- dermica, a 90 giorni: allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B28, saggio di tossicità cutanea subcronica,
- inalatoria, a 28 giorni: allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B8, tossicità a dose ripetuta per inalazione,
- inalatoria, a 90 giorni: allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B29, saggio di tossicità subcronica inalatoria.

#### 5.4. Genotossicità

##### Scopo delle prove

Questi studi sono utili per:

- predire il potenziale genotossico,

- individuare precocemente gli agenti cancerogeni genotossici,
- chiarire il meccanismo d'azione di alcuni agenti cancerogeni.

Per evitare risposte artefatte del sistema in esame, non devono essere utilizzate dosi estremamente tossiche nelle prove di mutagenesi in vitro o in vivo. Questo approccio deve essere considerato come orientamento generale. È importante che venga adottato un approccio flessibile e che si decida di effettuare ulteriori prove in base all'interpretazione dei risultati di ogni fase.

#### 5.4.1. Studi in vitro

##### *Circostanze di necessità delle prove*

Le prove di mutagenesi in vitro (prova batterica di mutazione genica, test di clastogenesi in cellule di mammiferi e test di mutazione genica in cellule di mammiferi) devono essere effettuate sempre.

##### *Disciplinare per le prove*

Disciplinari per prove accettabili:

- allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B13/14 — test di reversione su batteri,
- allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B10 — test in vitro di aberrazione cromosomica nei mammiferi,
- allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B17 — test in vitro di mutazione genica su cellule di mammifero.

#### 5.4.2. Studi in vivo su cellule somatiche

##### *Circostanze di necessità delle prove*

Se tutti i risultati dei test in vitro sono negativi, dev'essere effettuata un'ulteriore sperimentazione prendendo in considerazione altri dati pertinenti disponibili (ivi compresi dati tossicocinetici, tossicodinamici e chimico-fisici, nonché dati su sostanze analoghe); la prova può consistere in uno studio in vivo o in vitro, effettuato utilizzando un sistema con metabolismo differente da quello/quelli utilizzato/i precedentemente.

Se l'esito del test di citogenesi in vitro è positivo, deve essere effettuato un test in vivo su cellule somatiche (analisi della metafase nel midollo osseo di roditori o test del micronucleo in roditori).

Se l'esito di almeno uno dei test di mutazione genica in vitro è positivo, occorre effettuare un test in vivo della sintesi non programmata del DNA o un saggio delle macchie (spot test) sul topo.

##### *Disciplinare per le prove*

Disciplinari per le prove accettabili:

- allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B12 — test in vivo sui micronuclei negli eritrociti di mammifero,
- allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B24 — saggio delle macchie (spot test): topi,
- allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B11 — test in vivo di aberrazione cromosomica sul midollo osseo di mammiferi.

#### 5.4.3. Studi in vivo su cellule germinali

##### *Circostanze di necessità delle prove*

Se l'esito di uno studio in vivo su cellule somatiche è positivo, può essere giustificato eseguire test in vivo per determinare gli effetti sulle cellule germinali. L'eventuale necessità di questi test sarà valutata caso per caso, tenendo conto dei dati tossicocinetici, dell'utilizzazione e dell'esposizione prevista. Sono necessari test opportuni per esaminare l'interazione con il DNA (ad esempio, il saggio dei letali dominanti) e le potenzialità di effetti ereditari con un'eventuale valutazione quantitativa. Data la loro complessità, si ammette che gli studi quantitativi siano necessari solo se fortemente motivati.

#### 5.5. *Tossicità a lungo termine e cancerogenesi*

##### Scopo delle prove

Gli studi a lungo termine, considerati congiuntamente ad altri dati sulla sostanza attiva, devono essere sufficienti per poter individuare gli effetti di un'esposizione ripetuta alla sostanza attiva e, in particolare, per

- individuare gli effetti dannosi dell'esposizione alla sostanza attiva,
- individuare gli organi bersaglio, se del caso,
- stabilire il rapporto dose/risposta,
- individuare i mutamenti dei segni e delle manifestazioni di tossicità osservati,
- stabilire il NOAEL.

Analogamente, gli studi di cancerogenesi, congiuntamente con altri dati sulla sostanza attiva, devono essere sufficienti per valutare i rischi per l'uomo conseguenti ad esposizione ripetuta alla sostanza attiva e, in particolare, per:

- individuare gli effetti cancerogeni dell'esposizione alla sostanza attiva,
- determinare la specificità dei tumori indotti riguardo a specie e organi,
- stabilire il rapporto dose/risposta,
- per quanto riguarda gli agenti cancerogeni non genotossici, determinare la dose massima che non provoca effetti dannosi (dose soglia).

##### Circostanze di necessità delle prove

Devono essere determinate la tossicità a lungo termine e la cancerogenesi di tutte le sostanze attive. Se si ritiene che, in casi eccezionali, non sia necessario procedere ai test, occorre darne chiara giustificazione e cioè dai dati tossicocinetici deve risultare che la sostanza attiva non viene assorbita attraverso l'intestino, la pelle o il sistema respiratorio.

##### Condizioni sperimentali

Deve essere effettuato uno studio di tossicità per via orale e di cancerogenesi a lungo termine (due anni) della sostanza attiva sul ratto; questi studi possono essere associati.

Dev'essere effettuato uno studio di cancerogenesi della sostanza attiva sul topo.

Qualora si supponga la probabilità di un meccanismo non genotossico di cancerogenesi, occorre presentare uno studio molto circostanziato, con relativi dati sperimentali pertinenti, nonché le informazioni necessarie per chiarire il probabile meccanismo ipotizzato.

Sebbene gli elementi di riferimento standard per le risposte al trattamento siano dati di controllo concomitanti, possono rivelarsi utili dati di controllo storici per l'interpretazione di particolari studi di cancerogenesi. I dati di controllo storici eventualmente presentati devono riguardare la stessa specie e lo stesso ceppo, conservato in condizioni simili, e devono essere ottenuti da studi contemporanei. Le informazioni sui dati di controllo storici devono comprendere:

- l'identificazione della specie e del ceppo, il nome del fornitore e l'identificazione della colonia specifica, qualora l'ubicazione geografica del fornitore non sia unica,
- il nome del laboratorio e la data di esecuzione dello studio,
- la descrizione delle condizioni generali di mantenimento degli animali, ivi inclusi il tipo e la qualità della dieta e, ove possibile, la quantità consumata,
- l'età approssimativa (in giorni) degli animali di controllo all'inizio dello studio e al momento della soppressione o della morte,

- la descrizione dell'andamento osservato della mortalità del gruppo di controllo nel corso o al termine dello studio, nonché altre osservazioni utili (ad esempio, malattie, infezioni),
- il nome del laboratorio e dei responsabili della raccolta e dell'interpretazione dei dati patologici ottenuti dallo studio,
- la specificazione della natura dei tumori che, in associazione, possono aver avuto rilevanza sull'incidenza.

Le dosi da somministrare, ivi inclusa quella più elevata, devono essere scelte in base ai risultati di test a breve termine e, se possibile, al momento della programmazione degli studi in questione, sulla base di dati metabolici e tossicocinetici. Nello studio di cancerogenesi, il livello di dosaggio più elevato deve provocare segni di tossicità minima, come il leggero calo dell'aumento del peso corporeo (meno del 10 %) senza causare necrosi tessutale o saturazione metabolica e senza alterare sostanzialmente la normale durata di vita per cause non tumorali. Se viene effettuato separatamente uno studio di tossicità a lungo termine, il livello di dosaggio più elevato deve provocare determinati segni di tossicità senza causare una mortalità eccessiva. Dosi più elevate provocanti tossicità eccessiva non sono considerate di rilievo ai fini delle valutazioni da effettuare.

Nella raccolta dei dati e nella compilazione delle relazioni di studio, non devono essere combinate le incidenze di tumori benigni e di tumori maligni, a meno che non vi sia chiara prova che tumori benigni si trasformino, col passare del tempo, in tumori maligni. Analogamente, nelle relazioni di studio non devono essere combinati tumori dissimili e non associati (sia benigni che maligni) che si producono nello stesso organo. Per evitare confusioni, nella nomenclatura e nelle relazioni sui tumori dev'essere utilizzata la terminologia approntata dall'American Society of Toxicologic Pathologists <sup>(1)</sup> o dall'Hannover Tumor Registry (RENI). Occorre specificare il sistema terminologico utilizzato.

È essenziale che tra i materiali biologici selezionati per l'esame istopatologico siano compresi materiali atti a fornire ulteriori informazioni sulle lesioni rilevate nell'esame macropatologico. Qualora utili per chiarire il meccanismo d'azione e qualora siano disponibili le relative tecniche, occorre svolgere, riportandone i risultati, studi istologici speciali (colorazione), studi istochimici ed esami al microscopio elettronico.

#### Disciplinare per le prove

Gli studi devono essere condotti conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B30 (saggio di tossicità cronica), metodo B32 (saggio di cancerogenesi) oppure metodo B33 (saggio combinato di tossicità cronica/cancerogenesi).

#### 5.6. Tossicità sulla riproduzione

Gli effetti dannosi sulla riproduzione sono principalmente di due tipi:

- danno della fertilità del maschio o della femmina,
- incidenze sullo sviluppo normale della progenie (tossicità sullo sviluppo).

Devono essere studiati e indicati gli eventuali effetti su tutti gli aspetti della fisiologia della riproduzione sia nei maschi che nelle femmine nonché gli eventuali effetti sullo sviluppo pre e post natale. Qualora, in casi eccezionali, si ritenga che il test non sia necessario, occorre darne chiara e completa motivazione.

Sebbene gli elementi di riferimento standard per le risposte al trattamento siano dati di controllo concomitanti, possono rivelarsi utili dati di controllo storici per l'interpretazione di particolari studi sulla riproduzione. I dati di controllo storici eventualmente presentati devono riguardare la stessa specie e lo stesso ceppo, conservato in condizioni simili, e devono essere ottenuti da studi contemporanei. Le informazioni sui dati di controllo storici devono comprendere:

- l'identificazione della specie e del ceppo, il nome del fornitore e l'identificazione della colonia specifica, qualora l'ubicazione geografica del fornitore non sia unica,
- il nome del laboratorio e la data di esecuzione dello studio,

<sup>(1)</sup> Standardised System of Nomenclature and Diagnostic Criteria — Guides for Toxicologic Pathology.

- la descrizione delle condizioni generali di mantenimento degli animali, ivi inclusi il tipo e la marca della dieta e, ove possibile, la quantità consumata,
- l'età approssimativa (in giorni) degli animali di controllo all'inizio dello studio e al momento della soppressione o della morte,
- la descrizione dell'andamento osservato della mortalità del gruppo di controllo nel corso o al termine dello studio nonché altre osservazioni utili (ad esempio malattie, infezioni),
- il nome del laboratorio e dei responsabili della raccolta e dell'interpretazione dei dati tossicologici ottenuti dallo studio.

#### 5.6.1. Studi multigenerazionali

##### *Scopo delle prove*

Gli studi, congiuntamente con altri dati sulla sostanza attiva, devono essere sufficienti per poter individuare gli effetti sulla riproduzione conseguenti ad esposizione ripetuta alla sostanza attiva e, in particolare, per:

- individuare gli effetti diretti e indiretti sulla riproduzione conseguenti all'esposizione alla sostanza attiva,
- individuare l'eventuale aumento di effetti tossici generali (osservati nei test di tossicità a breve termine e cronica),
- stabilire il rapporto dose/risposta,
- individuare le variazioni delle manifestazioni e dei segni tossici osservati,
- stabilire il NOAEL.

##### *Circostanze di necessità delle prove*

Occorre sempre presentare una relazione di studio della tossicità sulla riproduzione nel ratto su almeno due generazioni.

##### *Disciplinare per le prove*

La prova deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B35, studio di tossicità riproduttiva a due generazioni. Occorre inoltre indicare il peso degli organi riproduttivi.

##### *Studi supplementari*

Per una migliore interpretazione degli effetti sulla riproduzione potrebbe essere necessario effettuare gli studi supplementari seguenti (sempre che non siano già disponibili i relativi dati):

- studi separati su maschio e su femmina,
- modelli trisegmentali,
- saggio dei letali dominanti per la fertilità del maschio,
- accoppiamenti incrociati di maschi trattati con femmine non trattate e viceversa,
- effetto sulla spermatogenesi,
- effetti sulla oogenesi,
- motilità, mobilità e morfologia dello sperma,
- esame dell'attività ormonale.

## 5.6.2. Studi di tossicità sullo sviluppo

### *Scopo delle prove*

Le relazioni sugli studi effettuati, congiuntamente con altri dati sulla sostanza attiva, devono essere sufficienti per poter valutare gli effetti sullo sviluppo embrionale e fetale conseguenti ad esposizione ripetuta alla sostanza attiva e, in particolare, per:

- individuare gli effetti diretti e indiretti sullo sviluppo embrionale e fetale derivanti da esposizione alla sostanza attiva,
- individuare l'eventuale tossicità materna,
- stabilire il rapporto tra risposte osservate e dose nella genitrice e nella figliata,
- individuare le variazioni delle manifestazioni e dei segni tossici osservati,
- stabilire il NOAEL.

Inoltre, i test forniranno altre informazioni su eventuali aumenti degli effetti tossici generali nelle femmine gravide.

### *Circostanze di necessità delle prove*

I test devono essere effettuati sempre.

### *Condizioni sperimentali*

Deve essere stabilita la tossicità sullo sviluppo, sia nel ratto che nel coniglio, per via orale. Devono essere descritte separatamente le malformazioni e le alterazioni. Nella relazione deve essere indicato un glossario terminologico e i principi diagnostici riguardo a tutte le malformazioni e le alterazioni.

### *Disciplinare per le prove*

La prova deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo B31, studio di tossicità prenatale.

## 5.7. Studi di neurotossicità tardiva

### *Scopo delle prove*

I test devono fornire dati sufficienti per valutare se la sostanza attiva può provocare neurotossicità tardiva dopo esposizione acuta.

### *Circostanze di necessità delle prove*

Questi studi devono essere effettuati per sostanze con struttura simile o connessa con quella di sostanze che possono indurre neurotossicità tardiva, come gli organofosfati.

### *Disciplinare per le prove*

I test devono essere effettuati conformemente agli orientamenti OCSE 418.

## 5.8. Altri studi tossicologici

### 5.8.1. Studi di tossicità dei metaboliti: punto vii) dell'introduzione

Non è necessario eseguire normalmente studi supplementari riguardanti sostanze diverse dalla sostanza attiva.

Una decisione sull'eventuale necessità di eseguire questi studi deve essere presa caso per caso.

### 5.8.2. Studi supplementari sulla sostanza attiva

In taluni casi può essere necessario effettuare studi supplementari per chiarire maggiormente gli effetti osservati. Ad esempio:

- studi sull'assorbimento, sulla distribuzione, sull'escrezione e sul metabolismo,
- studi sul potenziale neurotossico,
- studi sul potenziale immunotossicologico,
- studi su altre vie di somministrazione.

La decisione circa l'eventuale necessità di svolgere studi supplementari deve essere presa caso per caso, tenendo conto dei risultati degli studi tossicologici e sul metabolismo disponibili nonché delle più importanti vie di esposizione.

Questi studi devono essere progettati singolarmente, sulla base dei particolari parametri da osservare e degli obiettivi da conseguire.

### 5.9. Dati clinici

Se disponibili e fatte salve le disposizioni dell'articolo 10 della direttiva 98/24/CE del Consiglio <sup>(1)</sup>, devono essere forniti informazioni e dati sperimentali utili per il riconoscimento dei sintomi di avvelenamento e riguardanti l'efficacia delle misure terapeutiche e di primo intervento. Devono essere forniti riferimenti più specifici per lo studio degli antidoti e dei farmaci di sicurezza sugli animali. Se del caso, deve essere studiata, riportandone i risultati, l'efficacia dei possibili antagonisti dell'avvelenamento.

Se disponibili e se sufficientemente attendibili, sono di particolare utilità dati e informazioni inerenti agli effetti dell'esposizione dell'uomo, per confermare la validità delle estrapolazioni e delle conclusioni concernenti gli organi bersaglio, i rapporti dose/risposta e la reversibilità degli effetti tossici. Questi dati possono essere ottenuti in seguito ad esposizione professionale o accidentale.

#### 5.9.1. Controllo medico sul personale degli impianti di fabbricazione

Devono essere presentate relazioni sui programmi di controllo sanitario sui lavoratori del settore, con informazioni particolareggiate sulla strutturazione del programma, sull'esposizione alla sostanza attiva e ad altri prodotti chimici. Tali relazioni devono contenere, ove possibile, dati sul meccanismo d'azione della sostanza attiva e devono riportare dati, se disponibili, relativi a persone esposte negli impianti di fabbricazione o dopo l'applicazione della sostanza attiva (ad esempio in prove di efficacia).

Devono essere fornite le informazioni disponibili sulla sensibilizzazione e sulla risposta allergica di lavoratori e di altre persone esposte alla sostanza attiva; se del caso, queste informazioni devono contenere dettagli sull'eventuale incidenza di casi di ipersensibilità, nonché sulla frequenza, sul livello e sulla durata dell'esposizione, i sintomi osservati ed altre informazioni cliniche pertinenti.

#### 5.9.2. Osservazione diretta — ad esempio casi clinici e di avvelenamento

Devono essere presentate le relazioni disponibili, tratte dalla letteratura, su casi clinici e di avvelenamento tratti da pubblicazioni scientifiche o da rapporti ufficiali, unitamente alle relazioni su eventuali studi d'analisi successivi. Esse devono contenere descrizioni complete della natura, del livello e della durata dell'esposizione, dei sintomi clinici osservati, delle misure terapeutiche e di primo intervento applicate nonché le misurazioni e le osservazioni fatte. Non sono di particolare utilità informazioni sintetiche e riassunti.

Questa documentazione, se sufficientemente dettagliata, può essere di particolare utilità per confermare o meno la validità delle estrapolazioni dall'animale all'uomo e per individuare effetti dannosi non previsti specifici sull'uomo.

<sup>(1)</sup> GU L 131 del 5.5.1998, pag. 11.

- 5.9.3. Osservazioni sull'esposizione della popolazione in generale e studi epidemiologici, se del caso
- Sono di particolare utilità e devono essere presentati studi epidemiologici, se disponibili, se corredati da dati sui livelli e sulla durata dell'esposizione e se effettuati secondo norme e metodi riconosciuti<sup>(1)</sup>.
- 5.9.4. Diagnosi dell'avvelenamento (determinazione della sostanza attiva e dei metaboliti), segni specifici di avvelenamento, test clinici
- Dev'essere fornita una descrizione particolareggiata dei segni e dei sintomi clinici dell'avvelenamento (ivi inclusi quelli precoci) con dettagli completi dei test clinici utili ai fini diagnostici, se disponibili. Occorre inoltre fornire informazioni particolareggiate sui relativi decorsi concernenti l'ingestione, l'esposizione dermica o l'inalazione di quantità variabili della sostanza attiva.
- 5.9.5. Trattamento proposto: misure di pronto soccorso, antidoti, trattamento medico
- Devono essere indicate le misure di pronto soccorso in caso di avvelenamento (reale o sospetto) e in caso di contaminazione degli occhi.
- Devono essere descritti dettagliatamente i regimi terapeutici in caso di avvelenamento o di contaminazione degli occhi e gli eventuali antidoti disponibili. Devono essere fornite informazioni — basate sull'esperienza pratica, se disponibili, o su fondamenti teorici, in caso contrario — sull'efficacia di eventuali trattamenti alternativi. Devono essere descritte le controindicazioni associate a particolari regimi, soprattutto in relazione a «problemi medici generali» — e le relative condizioni.
- 5.9.6. Effetti previsti dell'avvelenamento
- Occorre descrivere, se noti, gli effetti previsti dell'avvelenamento e la loro durata; inoltre:
- il tipo, il livello e la durata dell'esposizione o dell'ingestione,
  - i vari periodi di tempo tra esposizione o ingestione e inizio del trattamento.
- 5.10. Sintesi della tossicità nei mammiferi e valutazione complessiva
- Dev'essere presentata una sintesi di tutti i dati di cui dal punto 5.1. al punto 5.10., con una loro valutazione particolareggiata e critica tenendo presente i pertinenti criteri e orientamenti valutativi e decisionali, con particolare riferimento ai rischi, reali o eventuali, per l'uomo e per gli animali, unitamente ad indicazioni sull'estensione, sulla qualità e sull'affidabilità della base di dati.
- Dev'essere discussa la pertinenza dei dati presentati, se del caso, per quanto riguarda la valutazione del profilo tossicologico della sostanza attiva prodotta, alla luce delle conclusioni relative al profilo analitico delle partite della sostanza attiva (punto 1.11.) e degli eventuali studi di connessione effettuati [sezione 5, introduzione, punto iv)].
- Devono essere specificate le motivazioni di scelta dei NOAEL proposti in ciascuno studio sulla base di una valutazione dei dati e dei pertinenti criteri ed orientamenti decisionali.
- In base a tali dati, devono essere presentate proposte, scientificamente motivate, di fissazione di valori DGA e AOEL per la sostanza attiva.
- 6. Residui in o su prodotti trattati, alimenti per l'uomo e per gli animali**
- Introduzione*
- i) Le informazioni fornite, insieme con quelle precisate per uno o più preparati contenenti la sostanza attiva, devono essere tali da consentire una valutazione dei rischi per l'uomo derivanti dai residui della sostanza attiva e dai metaboliti rilevanti, dai prodotti di degradazione e di reazione rimanenti negli alimenti. Inoltre, le informazioni fornite devono essere sufficienti per:
- poter decidere se la sostanza attiva possa essere approvata o meno,
  - specificare le opportune condizioni o limitazioni a cui subordinare l'eventuale approvazione.

<sup>(1)</sup> Guidelines for Good Epidemiology Practices for Occupational and Environmental Research; Chemical Manufacturers Association's Epidemiology Task Group — Epidemiology Resource and Information Center (ERIC), progetto pilota, 1991.

- ii) Deve essere presentata una descrizione dettagliata (specifica) del materiale usato, come stabilito al punto 1.11.
- iii) Gli studi devono essere effettuati conformemente agli orientamenti UE in tema di produzione di dati sui residui <sup>(1)</sup>.
- iv) Se del caso, i dati devono essere analizzati mediante appropriati metodi statistici. Dovranno essere riportati i dettagli completi dell'analisi statistica.
- v) Stabilità dei residui durante il magazzinaggio.

Può risultare necessario svolgere studi di stabilità dei residui durante il magazzinaggio. A condizione che i campioni vengano congelati, di norma, entro 24 ore dal campionamento e salvo si sappia per altra via che un composto è volatile o labile, tali dati non sono richiesti per campioni prelevati ed analizzati entro 30 giorni dal campionamento (6 mesi in caso di materiale radiomarcato).

Occorre effettuare studi con sostanze non radiomarcate utilizzando substrati rappresentativi e preferibilmente su campioni di colture trattate o di animali su cui si sono riscontrati residui. In alternativa, se ciò non è possibile, aliquote di campioni di controllo preparati devono essere addizionate di una quantità nota di composto chimico prima del magazzinaggio in condizioni normali.

Qualora la degradazione dei campioni durante il loro magazzinaggio fosse significativa (superiore al 30 %), può essere necessario modificare le condizioni di magazzinaggio oppure non procedere al loro magazzinaggio prima dell'analisi e ripetere le analisi se tali condizioni sono state insoddisfacenti.

Occorre presentare informazioni dettagliate sulla preparazione del campione e sulle condizioni di magazzinaggio (temperatura e durata) dei campioni e degli estratti. Salvo nel caso in cui i campioni vengano analizzati entro 24 ore dall'estrazione, saranno necessari anche dati sulla stabilità durante il magazzinaggio ottenuti su estratti del campione.

#### 6.1. *Metabolismo, distribuzione ed espressione del residuo nelle piante*

##### Scopo delle prove

Questi studi vengono eseguiti con l'obiettivo di:

- fornire una stima dei residui terminali totali presenti nella porzione di interesse delle colture al momento del raccolto dopo il trattamento proposto,
- identificare i componenti principali del residuo terminale totale,
- indicare la distribuzione dei residui tra le parti di interesse della pianta coltivata,
- quantificare i componenti principali del residuo e determinare l'efficienza delle procedure di estrazione per questi componenti,
- stabilire la definizione e l'espressione del residuo.

##### Circostanze di necessità delle prove

Questi studi devono sempre essere eseguiti salvo nel caso in cui si possa comprovare che non rimangono residui sui vegetali o sui prodotti vegetali utilizzati come alimenti per l'uomo o per gli animali.

##### Condizioni sperimentali

Gli studi sul metabolismo devono comprendere piante o categorie di piante coltivate sulle quali verrebbero utilizzati i prodotti fitosanitari contenenti la sostanza attiva in questione. Se è prevista un'ampia gamma di utilizzi in differenti categorie di coltivazioni o nella categoria «frutta», gli studi vanno eseguiti su almeno tre coltivazioni a meno che si possa motivare l'improbabilità di un metabolismo differente. Se è previsto l'impiego su varie categorie di coltivazioni, gli studi devono essere rappresentativi delle pertinenti categorie. A questo scopo le coltivazioni possono essere suddivise in cinque categorie: radici commestibili, ortaggi a foglie, frutta, leguminose e semi oleosi, cereali. Se sono disponibili studi per coltivazioni appartenenti a tre di queste categorie e i risultati indicano che la via di degradazione è simile nelle tre categorie, non dovrebbe essere necessario effettuare studi ulteriori, a meno che si possa prevedere un metabolismo differente. Gli studi di metabolismo devono tener conto anche delle differenti proprietà della sostanza attiva e del metodo di applicazione previsto.

<sup>(1)</sup> [http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/publications\\_en.htm#residues](http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/publications_en.htm#residues)

Deve essere fornita una valutazione dei risultati dei vari studi, circa il sito e la via di assorbimento (ad esempio attraverso le foglie o le radici), nonché circa la distribuzione dei residui nelle varie parti del vegetale al momento del raccolto (con particolare riguardo per le parti commestibili per l'uomo o per gli animali). Se né la sostanza attiva, né i metaboliti rilevanti vengono assorbiti dalla pianta coltivata, si dovrà fornirne una spiegazione. Nella valutazione dei dati sperimentali, possono essere utili informazioni sulla modalità di azione e sulle proprietà chimico-fisiche della sostanza attiva.

#### 6.2. *Metabolismo, distribuzione ed espressione del residuo nel bestiame*

##### Scopo delle prove

Questi studi vengono eseguiti con l'obiettivo di:

- identificare i componenti principali del residuo terminale totale presente in prodotti animali commestibili,
- quantificare il tasso di degradazione e di escrezione del residuo totale in certi prodotti animali (latte o uova) e le escrezioni,
- indicare la distribuzione dei residui tra i pertinenti prodotti animali commestibili,
- quantificare i componenti principali del residuo e dimostrare l'efficienza delle procedure di estrazione per questi componenti,
- ottenere dati che permettano di decidere se occorre effettuare gli studi di alimentazione del bestiame di cui al punto 6.4,
- stabilire la definizione e l'espressione del residuo.

##### Circostanze di necessità delle prove

Studi di metabolismo su animali, come ruminanti da latte (ad esempio capra o vacca) o galline ovaiole, sono richiesti solo quando l'utilizzo dell'antiparassitario può portare a residui significativi negli alimenti per il bestiame ( $\geq 0,1$  mg/kg della dieta totale ricevuta, salvo casi speciali come sostanze attive che tendono ad accumularsi). Se risulta evidente che i percorsi metabolici differiscono in modo significativo nel ratto in confronto ai ruminanti, deve essere condotto uno studio sul maiale, salvo nel caso in cui si preveda che la quantità assunta dai maiali non sia significativa.

#### 6.3. *Sperimentazioni sui residui*

##### Scopo delle prove

Questi studi vengono eseguiti con l'obiettivo di:

- quantificare i livelli più elevati di residui nelle colture trattate, al momento della raccolta o del prelievo dai magazzini, secondo la buona pratica agricola (BPA) proposta, e
- determinare, se del caso, il tasso di riduzione dei depositi di prodotti fitosanitari.

##### Circostanze di necessità delle prove

Questi studi devono sempre essere eseguiti nel caso in cui il prodotto fitosanitario venga applicato a vegetali o prodotti vegetali utilizzati come alimenti per l'uomo o per gli animali oppure nel caso in cui tali vegetali possono assorbire residui dal terreno o da altri substrati, salvo nel caso in cui sia possibile un'estrapolazione da dati adeguati ottenuti su un'altra coltura.

Nel fascicolo si dovranno fornire dati relativi alle sperimentazioni sui residui, per gli usi di prodotti fitosanitari per i quali viene richiesta l'autorizzazione al momento della presentazione di un fascicolo per l'approvazione della sostanza attiva.

##### Condizioni sperimentali

Le prove controllate devono corrispondere alla BPA critica proposta. Le condizioni sperimentali devono tener conto dei residui massimi che possono ragionevolmente verificarsi (ad esempio numero massimo di applicazioni proposte, uso della massima quantità prevista, minimi intervalli di sicurezza prima della raccolta, periodi di attesa o periodi di magazzinaggio) ma che rimangono rappresentativi delle peggiori condizioni possibili in cui la sostanza attiva potrebbe essere utilizzata.

Occorre produrre e presentare dati sufficienti a conferma del fatto che i modelli stabiliti sono validi nelle regioni e nelle condizioni in esse probabili per le quali è raccomandato l'uso del prodotto.

Nella definizione di un programma di sperimentazioni controllate, si deve normalmente tener conto di fattori come differenze climatiche esistenti tra le aree di produzione, differenze nei metodi di produzione (ad esempio usi in campo aperto rispetto all'uso in serra), nelle stagioni di produzione, nel tipo di formulazione, ecc.

In generale, per una serie di condizioni paragonabili, le sperimentazioni devono essere eseguite in almeno due stagioni di coltivazione. Qualsiasi eccezione deve essere motivata in modo esauriente.

È difficile determinare con precisione il numero di prove necessarie senza una valutazione preliminare dei risultati sperimentali. I dati minimi richiesti valgono solo quando si possa stabilire che le aree di produzione sono paragonabili, ad esempio per quanto riguarda il clima, i metodi e le stagioni di coltivazione del prodotto, ecc. Supposto che tutte le altre variabili (clima ecc.) siano confrontabili, per le coltivazioni principali sono richieste almeno otto prove rappresentative dell'area di coltivazione proposta. Per le coltivazioni minori, sono normalmente richieste quattro prove rappresentative dell'area di coltivazione proposta.

A motivo del livello di omogeneità intrinsecamente più elevato dei residui risultanti da trattamenti post-raccolta o presenti su coltivazioni protette, saranno accettabili prove eseguite in una solo periodo vegetativo. Per i trattamenti post-raccolta, in linea di principio sono richieste almeno quattro prove eseguite preferibilmente in diverse località con differenti coltivazioni. Occorre eseguire una serie di prove per ciascun metodo di applicazione e ciascun tipo di magazzinaggio, salvo nel caso in cui si possa identificare con chiarezza la situazione peggiore per quanto riguarda i residui.

Si può ridurre il numero degli studi per stagione di coltivazione che occorre svolgere se si può comprovare che i livelli di residui nei vegetali e nei prodotti vegetali saranno inferiori al limite di determinazione.

Nel caso in cui al momento dell'applicazione del prodotto sia presente una parte significativa della coltura consumabile, devono essere presentati dati sulla metà delle sperimentazioni controllate sui residui che mostrino la variazione nel tempo del livello di residui presente (studi di decadimento dei residui), a meno che si possa comprovare che l'applicazione del prodotto fitosanitario non ha alcun effetto sulla coltura consumabile, nelle condizioni d'impiego proposte.

#### 6.4. *Studi di alimentazione del bestiame*

##### Scopo delle prove

Questi studi hanno l'obiettivo di determinare il residuo in prodotti di origine animale derivante da residui contenuti negli alimenti per animali o nelle piante foraggere.

##### Circostanze di necessità delle prove

Studi di alimentazione sono richiesti solo:

- quando nelle piante coltivate o nelle parti vegetali (ad esempio scarti, scorie) utilizzate per l'alimentazione degli animali si hanno residui significativi ( $\geq 0,1$  mg/kg della dieta totale ricevuta, salvo casi speciali, come sostanze attive che si accumulano), e
- quando studi metabolici indicano che in qualsiasi tessuto commestibile dell'animale si possono avere residui significativi (0,01 mg/kg, o superiori al limite di determinazione nel caso questo fosse superiore a 0,01 mg/kg), tenendo conto dei livelli dei residui in mangimi potenziali, ottenuti per una dose unica.

Se del caso, occorre presentare studi di alimentazione separati per ruminanti da latte e/o galline ovaiole. Se dagli studi sul metabolismo presentati conformemente al punto 6.2 risulta che i percorsi metabolici differiscono in modo significativo nel maiale in confronto ai ruminanti, si deve condurre uno studio sull'alimentazione del maiale, salvo nel caso in cui si preveda che la quantità assunta da quest'ultimo non sia significativa.

##### Condizioni sperimentali

In generale, il mangime viene somministrato a tre dosaggi (livello di residui previsto, 3-5 volte e 10 volte il livello di residui previsto). Nel definire la dose di base, si deve compilare una razione di alimentazione teorica.

#### 6.5. *Effetti della trasformazione industriale e/o delle preparazioni domestiche*

##### Circostanze di necessità delle prove

La decisione relativa alla necessità di eseguire studi sulla trasformazione industriale dipenderà:

- dall'importanza di un prodotto trasformato nella dieta umana o animale,
- dal livello del residuo nella pianta o nel prodotto vegetale da trasformare,

- dalle proprietà chimico-fisiche della sostanza attiva o dei metaboliti rilevanti,
- dalla possibilità che si possano ritrovare prodotti di degradazione di rilevanza tossicologica dopo la trasformazione della pianta o del prodotto vegetale.

Di norma non sarà necessario effettuare studi sulla trasformazione industriale se nella pianta o nel prodotto vegetale che verrebbe trasformato non sono presenti residui significativi o determinabili per via analitica, oppure se l'assunzione giornaliera massima teorica totale (TMDI) è inferiore al 10 % della DGA. Inoltre, questi studi non saranno di norma neppure necessari per vegetali o prodotti vegetali che nella maggior parte dei casi vengono consumati crudi, salvo quelli con parti non commestibili come limoni, banane, o kiwi, riguardo ai quali possono essere necessari dati sulla distribuzione del residuo nella buccia/polpa.

Per «residui significativi» si intendono in generale residui superiori a 0,1 mg/kg. Se l'antiparassitario interessato presenta una tossicità acuta elevata e/o una DGA bassa, si dovrà prendere in considerazione l'eventualità di eseguire studi di trattamento per residui determinabili inferiori a 0,1 mg/kg.

Questi studi non sono di norma necessari se il processo di trasformazione comporta soltanto semplici operazioni fisiche (quali lavaggio, pulitura o pressatura) che non comportano una variazione della temperatura della pianta o del prodotto vegetale.

#### 6.5.1. Effetti sulla natura del residuo

##### *Scopo delle prove*

L'obiettivo di questi studi è di stabilire se da residui contenuti nei prodotti non trasformati possano eventualmente formarsi, durante il trattamento, prodotti di degradazione o di reazione che possono rendere necessaria una valutazione specifica dei rischi.

##### *Condizioni sperimentali*

Secondo il livello e la natura chimica del residuo contenuto nel prodotto non trasformato, si dovrà esaminare, se del caso, una serie di situazioni rappresentative di idrolisi (che simulino le pertinenti operazioni di trasformazione). Può essere inoltre necessario studiare gli effetti di trasformazioni diverse dall'idrolisi se dalle proprietà della sostanza attiva o dei suoi metaboliti si può dedurre che a seguito di tali trasformazioni si possono ritrovare prodotti di degradazione di rilevanza tossicologica. Gli studi vengono normalmente condotti con una forma radiomarcata della sostanza attiva.

#### 6.5.2. Effetti sui livelli dei residui

##### *Scopo delle prove*

Gli obiettivi principali di questi studi sono:

- determinare la distribuzione quantitativa dei residui nei vari prodotti intermedi e finali e stimare i fattori di trasferimento,
- permettere una stima più realistica dell'assunzione di residui attraverso la dieta.

##### *Condizioni sperimentali*

Gli studi sulla trasformazione industriale devono rappresentare trattamenti domestici e/o processi industriali effettivi.

Nel primo caso, sarà di norma necessario eseguire solo una serie centrale di «studi di bilancio» rappresentativi dei trattamenti comuni eseguiti sui vegetali o sui prodotti vegetali contenenti residui significativi. La scelta di questi processi rappresentativi dovrà essere validamente motivata. La tecnologia da usarsi negli studi di trasformazione deve sempre corrispondere il più strettamente possibile alle effettive condizioni normalmente utilizzate nella pratica. Si dovrà produrre una scheda analitica del bilancio di massa dei residui in tutti i prodotti intermedi e finali. In tale scheda si devono poter individuare le concentrazioni o le riduzioni di residui nei singoli prodotti e determinare i corrispondenti fattori di trasferimento.

Se i prodotti vegetali trasformati costituiscono una parte importante della dieta e se gli «studi di bilancio» indicano che può verificarsi un trasferimento significativo di residui nei prodotti trasformati, si devono eseguire tre studi di controllo (follow-up) per determinare la concentrazione dei residui o i fattori di diluizione.

#### 6.6. Residui in colture successive

##### *Scopo delle prove*

Questi studi hanno l'obiettivo di permettere una valutazione di possibili residui in colture successive.

#### Circostanze di necessità delle prove

Se dai dati ottenuti conformemente al punto 7.1. del presente allegato o al punto 9.1., dell'allegato del regolamento (UE) n. 545/2011, risulta che nel suolo o in materiali vegetali (come paglia o materiale organico) permangono quantità significative di residui (> 10 % della sostanza attiva applicata, considerando globalmente la sostanza attiva non modificata e i suoi metaboliti rilevanti o prodotti di degradazione) sino all'epoca della semina o dell'impianto di eventuali colture successive, quantità che potrebbero comportare livelli di residui superiori al limite di determinazione nelle colture successive al momento del raccolto, deve essere esaminata la situazione circa i residui. Questo esame deve tener conto anche della natura del residuo nelle colture successive e dovrà contenere almeno una stima teorica del livello di questi residui. Se non si può escludere la probabilità della presenza di residui nelle colture successive, occorre effettuare studi di metabolismo e di distribuzione seguiti se necessario da prove in campo.

#### Condizioni sperimentali

Qualora venga effettuata una stima teorica dei residui nelle colture successive, occorre fornire i dettagli completi con relativa motivazione.

Se sono necessari studi sul metabolismo e sulla distribuzione nonché prove in campo, questi devono essere eseguiti su colture rappresentative della normale pratica agricola.

#### 6.7. *Livelli massimi di residui proposti (LMR) e definizione di residuo*

I livelli massimi di residui proposti devono essere accompagnati da una motivazione completa includente, se del caso, dettagli completi dell'analisi statistica utilizzata.

Nella valutazione di quali composti debbano essere inclusi nella definizione di residuo, si deve tener conto dell'importanza tossicologica dei composti, delle quantità probabili presenti e della praticità dei metodi analitici proposti per il controllo e la vigilanza successivi alla registrazione.

#### 6.8. *Intervalli di sicurezza pre-raccolta proposti per gli usi previsti, o periodi di attesa o periodi di magazzinaggio nel caso di utilizzi post-raccolta*

Le proposte devono essere accompagnate da una motivazione completa.

#### 6.9. *Stima dell'esposizione potenziale ed effettiva attraverso la dieta e altre vie*

Si dovrà porre attenzione al calcolo di una previsione realistica dell'assunzione attraverso la dieta. Ciò può essere realizzato per gradi, arrivando a previsioni sempre più realistiche della quantità assunta. Se del caso, si devono prendere in considerazione anche altre fonti di esposizione, ad esempio residui da medicinali o da farmaci per uso veterinario.

#### 6.10. *Sintesi e valutazione del comportamento dei residui*

Si deve eseguire una sintesi e una valutazione di tutti i dati presentati in questa sezione secondo gli orientamenti impartite dalle autorità competenti degli Stati membri per quanto riguarda il formato di tali sintesi e valutazioni. Vi devono figurare una valutazione dettagliata e critica dei dati nel contesto di criteri e disciplinari di valutazione e di decisione pertinenti, con particolare riferimento ai rischi che nascono o possono nascere per l'uomo o gli animali e alla completezza, alla qualità e all'affidabilità dei dati disponibili.

In particolare deve essere presa in considerazione la significatività tossicologica dei metaboliti in animali diversi dai mammiferi.

Si deve elaborare un diagramma schematico del percorso metabolico in piante e animali con una breve spiegazione della distribuzione e delle trasformazioni chimiche implicate.

### 7. **Destino e comportamento nell'ambiente**

#### *Introduzione*

- i) Le informazioni fornite, insieme a quelle precisate per uno o più preparati contenenti la sostanza attiva, devono essere tali da consentire una valutazione del destino e del comportamento della sostanza attiva nell'ambiente nonché dei possibili rischi per le specie non bersaglio derivanti dall'esposizione alla sostanza attiva, ai suoi metaboliti, ai prodotti di reazione e di degradazione, qualora siano di rilevanza tossicologica o ambientale.

- ii) Le informazioni fornite relative alla sostanza attiva, insieme ad altre informazioni pertinenti e con quelle fornite a riguardo dei preparati che la contengono, devono essere sufficienti per:
- decidere se la sostanza attiva possa essere approvata,
  - specificare le opportune condizioni o limitazioni da associare all'eventuale approvazione,
  - classificare la sostanza attiva in ordine alla sua pericolosità,
  - specificare i pittogrammi, le avvertenze, le indicazioni di pericolo e i consigli di prudenza ai fini della protezione dell'ambiente, da apporre sull'imballaggio (contenitori),
  - prevedere la distribuzione, il destino e il comportamento nell'ambiente della sostanza attiva, dei metaboliti rilevanti e dei prodotti di degradazione e di reazione, nonché i relativi tempi,
  - identificare le popolazioni e le specie non bersaglio per le quali la possibile esposizione della sostanza attiva può presentare pericoli,
  - individuare le misure necessarie per ridurre il più possibile la contaminazione dell'ambiente e l'impatto sulle specie non bersaglio.
- iii) Deve essere presentata una descrizione dettagliata (specifica) del materiale usato, come stabilito al punto 1.11. Nelle prove in cui viene impiegata la sostanza attiva, il materiale utilizzato deve essere conforme alle specifiche cui ci si dovrà attenere nella produzione dei preparati da autorizzare, salvo in caso di utilizzazione di materiale radiomarcato.

Se nelle prove viene utilizzata una sostanza attiva prodotta in laboratorio o in un impianto pilota, le prove devono essere ripetute utilizzando la sostanza attiva prodotta a meno che si possa dimostrare che il materiale di prova utilizzato sia essenzialmente lo stesso ai fini del controllo e della valutazione ambientali.

- iv) Se viene utilizzato materiale di prova radiomarcato, i radiomarcanti devono essere posti in siti (uno o più, se necessario) tali da agevolare la comprensione delle vie metaboliche e di degradazione nonché lo studio della distribuzione della sostanza attiva e dei suoi metaboliti, dei prodotti di reazione e di degradazione nell'ambiente.
- v) Può risultare necessario svolgere studi distinti sui metaboliti e sui prodotti di degradazione o di reazione qualora questi possano costituire un rischio considerevole per organismi non bersaglio o per la qualità delle acque, del terreno e dell'aria e qualora i loro effetti non possano essere valutati in base ai risultati disponibili sulla sostanza attiva. Prima di svolgere questi studi occorrerà prendere in considerazione i dati degli studi di cui alle sezioni 5 e 6.
- vi) Se del caso, si utilizzeranno appropriati metodi statistici per progettare le prove e per analizzare i risultati.

Devono essere riportati i dettagli completi dell'analisi statistica (ad esempio devono essere indicati tutti i valori con i relativi intervalli di confidenza e devono essere specificati gli esatti valori di  $p$  piuttosto che la semplice indicazione di significativo o non significativo).

#### 7.1. *Destino e comportamento nel suolo*

Devono essere riportate tutte le informazioni pertinenti sul tipo e sulle proprietà del suolo utilizzato negli studi, ivi inclusi il pH, il contenuto di carbonio organico, la capacità di scambio cationico, la distribuzione delle particelle in base alla loro dimensione e la capacità di ritenzione d'acqua a  $pF = 0$  e  $pF = 2,5$  in conformità con le relative norme ISO o altre norme internazionali.

Deve essere determinata, appena prima dell'inizio e alla fine dello studio, la biomassa microbica dei terreni utilizzati per gli studi di degradazione in laboratorio.

Si raccomanda di utilizzare il più possibile gli stessi suoli in tutti gli studi di laboratorio sul suolo.

I suoli utilizzati negli studi sulla degradazione o sulla mobilità devono essere selezionati in modo da essere rappresentativi dell'intera gamma di terreni tipici delle differenti regioni UE in cui vengono utilizzati o di cui è prevista l'utilizzazione; in particolare:

- i suoli devono coprire un certo intervallo di contenuto di carbonio organico, la distribuzione delle particelle secondo le loro dimensioni e i valori di pH, e

— qualora, in base ad altri dati, si supponga che la degradazione o la mobilità dipendano dal pH (ad esempio, solubilità e velocità di idrolisi — punti 2.7 e 2.8), devono essere considerati i seguenti intervalli di pH:

— da 4,5 a 5,5,

— da 6 a 7, e

— 8 (approssimativamente).

I suoli da utilizzare devono essere, se possibile, campionati di recente. Qualora sia inevitabile l'utilizzazione di suoli conservati, la conservazione deve essere stata effettuata correttamente per un periodo di tempo limitato e in determinate condizioni specifiche indicate. I suoli conservati per tempi più lunghi possono essere utilizzati solo per gli studi di assorbimento e di desorbimento.

Il suolo scelto per iniziare lo studio non deve avere caratteristiche estreme per quanto riguarda parametri quali la distribuzione delle particelle in base alla loro dimensione, il contenuto di carbonio organico e il pH.

I suoli devono essere raccolti e manipolati conformemente alla norma ISO 10381-6 (Soil quality — Sampling — Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of microbial processes in the laboratory). Le eventuali variazioni dalla norma devono essere indicate e motivate.

Gli studi sul campo devono essere effettuati in condizioni quanto più prossime possibili a quelle della normale pratica agricola su una gamma rappresentativa di tipi di suolo e di condizioni climatiche delle zone di utilizzazione. Per gli studi sul campo devono essere riportate le relative condizioni meteorologiche.

#### 7.1.1. Tasso e via di degradazione

##### 7.1.1.1. Via di degradazione

Scopo delle prove

I dati forniti, assieme ad altre informazioni pertinenti, devono essere sufficienti per:

- identificare, se possibile, l'importanza relativa dei tipi di processo che intervengono (bilancio tra degradazione chimica e biologica),
- identificare i singoli componenti che in qualsiasi momento sono in una percentuale superiore al 10 % della quantità di sostanza attiva aggiunta, ivi inclusi, se fattibile, i residui non estraibili,
- identificare, se possibile, anche i singoli componenti presenti in percentuale inferiore al 10 % della quantità di sostanza attiva aggiunta,
- stabilire i rapporti relativi dei componenti presenti (bilancio delle masse),
- poter definire i residui di interesse nel suolo e a quali di questi residui sono o possono essere esposte specie non bersaglio.

Qualora sia fatto riferimento a residui non estraibili, questi vengono definiti come specie chimiche provenienti da antiparassitari, utilizzati secondo la buona pratica agricola, che non possono essere estratti con metodi che non modificano significativamente la natura chimica di questi residui. I frammenti delle vie metaboliche che conducono ai prodotti naturali non sono considerati residui non estraibili.

##### 7.1.1.1.1. Degradazione aerobica

Circostanze di necessità delle prove

Occorre sempre riportare la via o le vie di degradazione, salvo nel caso in cui la natura e il modo di utilizzazione dei preparati contenenti la sostanza attiva escludano la contaminazione del suolo quali, ad esempio, le utilizzazioni su prodotti immagazzinati o i trattamenti di ferite di alberi.

Condizioni sperimentali

Devono essere riportate le vie di degradazione relative ad un suolo.

I risultati devono essere presentati sotto forma di grafici schematici in cui siano indicate le vie di degradazione coinvolte e sia illustrato il bilancio della distribuzione del radiomarcante, in funzione del tempo,

- nella sostanza attiva,
- nella CO<sub>2</sub>,
- nei composti volatili differenti dalla CO<sub>2</sub>,
- nei singoli prodotti di trasformazione identificati,
- nelle sostanze estraibili non identificate,
- nei residui non estraibili nel suolo.

La ricerca delle vie di degradazione deve comprendere tutte le fasi possibili atte a caratterizzare e a quantificare i residui non estraibili formati dopo 100 giorni, se superiori al 70 % della dose applicata della sostanza attiva. Le tecniche e le metodologie migliori da applicare verranno scelte caso per caso. Qualora i composti in questione non siano caratterizzati occorre darne motivazione.

Di norma, deve trattarsi di uno studio della durata di 120 giorni, salvo nel caso in cui, dopo un periodo più breve, i livelli di residui non estraibili e di CO<sub>2</sub> siano tali da rendere possibile la loro estrapolazione a 100 giorni.

Disciplinare per le prove

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides <sup>(1)</sup>.

#### 7.1.1.1.2. Studi supplementari

##### — *Degradazione anaerobica*

Circostanze di necessità delle prove

Devono essere riportati i risultati di uno studio di degradazione anaerobica, a meno che si possa asserire, con le debite motivazioni, che è improbabile l'utilizzazione dei prodotti fitosanitari contenenti la sostanza attiva in condizioni anaerobiche.

Condizioni sperimentali e disciplinari per le prove

Vale quanto indicato ai corrispondenti paragrafi del punto 7.1.1.1.1.

##### — *Fotolisi del suolo*

Circostanze di necessità delle prove

Devono essere riportati i risultati di uno studio della fotolisi del suolo, a meno che si possa asserire, con le debite motivazioni, che è improbabile il deposito della sostanza attiva sulla superficie del suolo.

Disciplinare per le prove

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides.

#### 7.1.1.2. *Tasso di degradazione*

##### 7.1.1.2.1. Studi di laboratorio

Scopo delle prove

Gli studi di degradazione nel suolo devono fornire le migliori stime possibili del tempo necessario per la degradazione del 50 % e del 90 % (DT<sub>50lab</sub> e DT<sub>90lab</sub>) della sostanza attiva e dei metaboliti rilevanti, dei prodotti di reazione e di degradazione in condizioni di laboratorio.

<sup>(1)</sup> Society of environmental toxicology and chemistry (SETAC), 1995. Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, ISBN 90-5607-002-9.

— *Degradazione aerobica*

Circostanze di necessità delle prove

Occorre sempre riportare la via o le vie di degradazione, salvo nel caso in cui la natura e il modo di utilizzazione dei prodotti fitosanitari contenenti la sostanza attiva escludano la contaminazione del suolo quali, ad esempio, le utilizzazioni su prodotti immagazzinati o i trattamenti di ferite di alberi.

Condizioni sperimentali

Occorre indicare il tasso di degradazione aerobica della sostanza attiva in tre tipi di suolo oltre a quello indicato al punto 7.1.1.1.1.

Per studiare l'influenza della temperatura sulla degradazione, occorre effettuare uno studio supplementare a 10 °C su uno dei suoli utilizzati per lo studio della degradazione a 20 °C, finché non sarà disponibile un modello di calcolo UE per l'estrapolazione del tasso di degradazione a basse temperature.

Di norma, lo studio deve essere esteso su un periodo di 120 giorni, salvo nel caso in cui oltre il 90 % della sostanza attiva si degrada prima del termine di detto periodo.

Devono essere riportati i risultati di studi analoghi riguardanti tre tipi di suolo per tutti metaboliti rilevanti, i prodotti di reazione e di degradazione presenti nel suolo e che in qualsiasi momento nel corso degli studi rappresentano più del 10 % della quantità di sostanza attiva aggiunta, salvo nel caso in cui sia possibile determinare i loro valori  $DT_{50}$  in base ai risultati degli studi di degradazione con la sostanza attiva.

Disciplinare per le prove

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides.

— *Degradazione anaerobica*

Circostanze di necessità delle prove

Deve essere indicato il tasso di degradazione anaerobica della sostanza attiva qualora sia necessario effettuare uno studio anaerobico secondo quanto indicato al punto 7.1.1.1.2.

Condizioni sperimentali

Deve essere riportata il tasso di degradazione anaerobica della sostanza attiva nel suolo utilizzato per lo studio anaerobico eseguito secondo quanto indicato al punto 7.1.1.1.2.

Di norma, lo studio deve essere esteso su un periodo di 120 giorni, salvo nel caso in cui oltre il 90 % della sostanza attiva si degrada prima del termine di detto periodo.

Devono essere riportati i risultati di studi analoghi riguardanti tutti i metaboliti rilevanti, i prodotti di reazione e di degradazione presenti nel suolo e che in qualsiasi momento nel corso degli studi rappresentano più del 10 % della quantità di sostanza attiva aggiunta, salvo nel caso in cui sia possibile determinare i loro valori  $DT_{50}$  in base ai risultati degli studi di degradazione con la sostanza attiva.

Disciplinare per le prove

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides.

7.1.1.2.2. Studi in campo

— *Studi di dissipazione nel suolo*

Scopo delle prove

Questi studi devono fornire stime del tempo necessario per la dissipazione del 50 % e del 90 % ( $DT_{50f}$  e  $DT_{90f}$ ) della sostanza attiva in condizioni di utilizzo sul campo. Se del caso, devono essere riportate informazioni sui metaboliti rilevanti e sui prodotti di reazione e di degradazione.

Circostanze di necessità delle prove

I test devono essere effettuati nel caso in cui il valore di  $DT_{50lab}$ , a 20 °C e ad un'umidità del suolo correlata ad un valore pF del potenziale idrico compreso tra 2 e 2,5 (pressione di aspirazione), è maggiore di 60 giorni.

Se i prodotti fitosanitari contenenti la sostanza attiva sono destinati ad essere utilizzati in condizioni climatiche rigide, i test devono essere effettuati se il valore di  $DT_{50lab}$  a 10 °C e ad un'umidità del suolo correlata ad un valore di pF compreso tra 2 e 2,5 (pressione di aspirazione) è maggiore di 90 giorni.

#### Condizioni sperimentali

I singoli studi devono essere proseguiti su una serie di suoli rappresentativi (normalmente su quattro differenti tipi di suolo) finché non si sia dissipato più del 90 % della quantità applicata. La durata massima degli studi è di 24 mesi.

#### Disciplinare per le prove

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides.

#### — Studi sui residui nel suolo

##### Scopo delle prove

Questi studi devono fornire stime dei livelli di residui nel suolo all'epoca del raccolto o della semina o dell'impianto di colture successive.

##### Circostanze di necessità delle prove

Occorre riportare i dati di questi studi qualora il valore  $DT_{50lab}$  sia maggiore di un terzo del tempo che intercorre tra l'applicazione e il raccolto e qualora sia possibile l'assorbimento nella coltura successiva, salvo nei casi in cui i residui nel suolo all'epoca della semina o dell'impianto di una coltura successiva possano essere valutati in modo affidabile in base ai dati degli studi di dissipazione nel suolo o se si possa asserire, con le debite motivazioni, che tali residui non possono essere fitotossici per le colture a rotazione o permangono in queste a livelli inaccettabili.

#### Condizioni sperimentali

I singoli studi devono essere proseguiti sino al raccolto o all'epoca della semina o dell'impianto delle colture successive a meno che non si sia dissipato oltre il 90 % della quantità applicata.

#### Disciplinare per le prove

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides.

#### — Studi sull'accumulo nel suolo

##### Scopo delle prove

I test devono fornire dati sufficienti per poter valutare la possibilità di accumulo dei residui della sostanza attiva e dei metaboliti rilevanti, dei prodotti di degradazione e di reazione.

##### Circostanze di necessità delle prove

Se dagli studi di dissipazione nel suolo risulta che il valore  $DT_{90f}$  è maggiore di 1 anno e se sono previste applicazioni ripetute nello stesso periodo vegetativo o negli anni successivi, occorre effettuare studi sulla possibilità di accumulo di residui nel suolo e sul livello di concentrazione massima (di plateau) raggiungibile a meno che non vengano presentati dati affidabili ottenuti con un opportuno modello di calcolo o un altro appropriato metodo di valutazione.

#### Condizioni sperimentali

Devono essere effettuati studi a lungo termine in campo che comportano diverse applicazioni su due tipi di suolo pertinenti.

Prima di eseguire questi studi il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo di studio da eseguire.

### 7.1.2. Adsorbimento e desorbimento

#### Scopo delle prove

I dati forniti insieme ad altre pertinenti informazioni dovrebbero essere sufficienti per determinare il coefficiente di adsorbimento della sostanza attiva, dei metaboliti rilevanti e dei prodotti di degradazione e di reazione.

*Circostanze di necessità delle prove*

Questi studi devono essere riportati sempre, salvo se la natura e il modo di utilizzazione dei preparati contenenti la sostanza attiva escludono la contaminazione del suolo come, ad esempio, le utilizzazioni su prodotti immagazzinati o i trattamenti di ferite di alberi.

*Condizioni sperimentali*

Gli studi sulla sostanza attiva devono essere riportati per quattro tipi di terreno.

Studi analoghi, per almeno tre tipi di suolo, devono essere riportati per tutti i metaboliti rilevanti, i prodotti di degradazione e di reazione che negli studi di degradazione sono stati rilevati, in qualsiasi momento, a valori superiori al 10 % della quantità della sostanza attiva aggiunta.

*Disciplinare per le prove*

Metodo OCSE 106

7.1.3. *Mobilità nel suolo*7.1.3.1. *Studi di lisciviazione su colonna*

Scopo delle prove

I test devono fornire dati sufficienti per poter valutare la mobilità e la lisciviabilità della sostanza attiva e, se possibile, dei metaboliti rilevanti e dei prodotti di degradazione e di reazione.

Circostanze di necessità delle prove

Devono essere effettuati studi su quattro suoli, qualora dagli studi di adsorbimento e di desorbimento di cui al punto 7.1.2 non sia possibile ottenere valori affidabili del coefficiente di adsorbimento.

Disciplinare per le prove

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides.

7.1.3.2. *Lisciviazione su colonna di residui stagionati*

Scopo delle prove

Il test deve fornire dati sufficienti per poter stimare la mobilità e la lisciviabilità dei metaboliti rilevanti e dei prodotti di degradazione e di reazione.

Circostanze di necessità delle prove

Gli studi devono essere effettuati salvo se:

- la natura e il modo di utilizzazione dei preparati contenenti la sostanza attiva escludono la contaminazione del suolo come, ad esempio, le utilizzazioni sui prodotti immagazzinati o i trattamenti di ferite di alberi, oppure
- è stato effettuato uno studio specifico relativo ai metaboliti e ai prodotti di degradazione o di reazione secondo quanto specificato al punto 7.1.2 o al punto 7.1.3.1.

Condizioni sperimentali

Il periodo o i periodi di stagionatura devono essere determinati in base all'analisi del modello della degradazione della sostanza attiva e dei metaboliti per garantire la presenza di una gamma pertinente di metaboliti al momento della lisciviazione.

Disciplinare per le prove

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides.

7.1.3.3. *Studi al lisimetro o studi di lisciviazione in campo*

Scopo delle prove

I test devono fornire dati su:

- la mobilità nel suolo,

- la liscivibilità da acque sotterranee,
- la possibile distribuzione nel suolo.

#### Circostanze di necessità delle prove

Occorrerà far ricorso al parere di esperti per decidere se sia necessario o meno effettuare studi al lisimetro o di lisciviazione in campo, tenendo conto dei risultati degli studi di degradazione e di mobilità nonché dei valori delle concentrazioni ambientali previste nelle acque sotterranee ( $PEC_{GW}$ ), calcolate secondo quanto prescritto alla sezione 9 dell'allegato del regolamento (UE) n. 545/2011. Il tipo e le condizioni dello studio da effettuare dovranno essere discussi con le autorità competenti.

#### Condizioni sperimentali

È necessaria la massima accuratezza nella progettazione degli impianti sperimentali e dei singoli studi in modo da garantire che i risultati ottenuti possano essere utilizzati ai fini della valutazione. Gli studi devono prevedere condizioni realistiche dei casi peggiori possibili, tenendo conto del tipo di suolo, delle condizioni climatiche, del tasso di applicazione e della frequenza e del periodo di applicazione.

L'acqua di percolazione attraverso le colonne di terreno deve essere analizzata ad intervalli opportuni e devono essere determinati i residui nel materiale vegetale all'epoca del raccolto. Al termine dei lavori sperimentali deve essere costruito il profilo dei residui nel suolo in almeno cinque strati. Occorre evitare un campionamento intermedio poiché la rimozione di piante (salvo per operazioni di raccolto, secondo la normale pratica agricola) e l'asportazione di zolle o carote di terreno altera le condizioni del processo di lisciviazione.

Devono essere registrate ad intervalli regolari (almeno settimanalmente) le precipitazioni e le temperature del suolo e dell'aria.

#### — Studi al lisimetro

##### Condizioni sperimentali

La profondità minima dei lisimetri dovrebbe essere di 100 cm e quella massima di 130 cm. I monoliti del suolo utilizzati non devono essere alterati. Le temperature del suolo devono essere prossime a quelle in campo. Ove opportuno, è necessario provvedere ad una maggiore irrigazione in modo da garantire una crescita ottimale delle piante e una quantità d'acqua d'infiltrazione prossima a quella delle regioni per le quali viene richiesta l'autorizzazione. Qualora, per motivi agricoli, il terreno debba essere alterato nel corso dello studio, le corrispondenti operazioni non devono estendersi ad una profondità superiore a 25 cm.

#### — Studi di lisciviazione in campo

##### Condizioni sperimentali

Devono essere presentati dati sulla superficie freatica dei campi sperimentali. Occorre descrivere dettagliatamente l'eventuale formazione di crepe del terreno osservata nel corso dello studio.

Occorre riservare particolare attenzione al numero e all'ubicazione delle apparecchiature di raccolta delle acque. Il loro posizionamento nel suolo non deve causare rigagnoli di scolo preferenziali.

##### Disciplinare per le prove

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides.

## 7.2. Destino e comportamento nell'acqua e nell'aria

### Scopo delle prove

I dati forniti insieme a quelli relativi ad uno o più preparati contenenti la sostanza attiva ed altre informazioni pertinenti devono essere sufficienti per stabilire o poter stimare:

- la persistenza in sistemi acquatici (acque e sedimenti di fondo, ivi incluse particelle sospese),
- il livello di rischio per le acque, gli organismi nei sedimenti e l'aria,
- il potenziale di contaminazione delle acque superficiali e delle acque sotterranee.

7.2.1. Via e tasso di degradazione in sistemi acquatici (se non considerati al punto 2.9.)

*Scopo delle prove*

I dati forniti, assieme ad altre informazioni pertinenti, devono essere sufficienti per:

- stabilire l'importanza relativa dei tipi di processo coinvolti (bilancio tra degradazione chimica e biologica),
- se possibile, identificare i singoli componenti presenti,
- stabilire i rapporti relativi dei componenti presenti e la loro distribuzione tra acque (incluse le particelle sospese) e sedimento,
- poter stabilire i residui di rilevanza a cui sono o possono essere esposte specie non bersaglio.

7.2.1.1. *Degradazione idrolitica*

*Circostanze di necessità delle prove*

Il test deve essere effettuato sempre per i metaboliti rilevanti e i prodotti di degradazione e di reazione che in qualsiasi momento sono presenti in una percentuale superiore al 10 % della quantità di sostanza attiva aggiunta, a meno che si siano ottenuti dati sufficienti sulla loro degradazione dal test effettuato secondo quanto indicato al punto 2.9.1.

*Condizioni sperimentali e disciplinari per le prove*

Vale quanto indicato ai corrispondenti paragrafi del punto 2.9.1.

7.2.1.2. *Degradazione fotochimica*

*Circostanze di necessità delle prove*

Il test deve essere effettuato sempre per i metaboliti rilevanti e i prodotti di degradazione e di reazione che in qualsiasi momento sono presenti in una percentuale superiore al 10 % della quantità di sostanza attiva aggiunta, a meno che si siano ottenuti dati sufficienti sulla loro degradazione dal test effettuato conformemente ai punti 2.9.2. e 2.9.3.

*Condizioni sperimentali e disciplinari per le prove*

Vale quanto indicato ai corrispondenti paragrafi del punto 2.9.2 e 2.9.3.

7.2.1.3. *Degradazione biologica*

7.2.1.3.1. *Biodegradabilità a breve termine*

*Circostanze di necessità delle prove*

Il test deve essere effettuato sempre, salvo se non richiesto ai sensi delle disposizioni dell'allegato I, parte 4, del regolamento (CE) n. 1272/2008.

*Disciplinare per le prove*

Metodo C4 del regolamento (CE) n. 440/2008.

7.2.1.3.2. *Studio su acque/sedimenti*

*Circostanze di necessità delle prove*

I risultati del test devono essere riportati a meno che si possa comprovare l'impossibilità di contaminazione delle acque di superficie.

*Disciplinare per le prove*

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides.

7.2.1.4. *Degradazione nella zona di saturazione*

*Circostanze di necessità delle prove*

I tassi di trasformazione, nella zona di saturazione delle sostanze attive, dei metaboliti rilevanti e dei prodotti di degradazione e di reazione possono fornire utili informazioni sul destino di queste sostanze nelle acque sotterranee.

#### Condizioni sperimentali

Per decidere se queste informazioni siano necessarie occorre far ricorso al parere di esperti in materia. Prima di eseguire questi studi il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo di studio da eseguire.

#### 7.2.2. Via e tasso di degradazione nell'aria (se non già considerati al punto 2.10)

Orientamenti in merito sono compresi nella relazione del gruppo di lavoro sugli antiparassitari nell'atmosfera «FOCUS<sup>(1)</sup> Working Group on Pesticides in Air»: PESTICIDES IN AIR: CONSIDERATIONS FOR EXPOSURE ASSESSMENT (2008)

#### 7.3. Definizione di residuo

In base alla composizione chimica dei residui presenti nel suolo, nell'acqua o nell'aria e derivanti dall'utilizzazione (o dall'utilizzazione proposta) di un prodotto fitosanitario contenente la sostanza attiva, deve essere proposta una definizione di residuo, tenendo conto dei livelli ritrovati e della loro rilevanza tossicologica e ambientale.

#### 7.4. Dati di monitoraggio

Devono essere riportati i dati di monitoraggio sul destino e sul comportamento della sostanza attiva e dei metaboliti rilevanti nonché dei prodotti di degradazione e di reazione.

### 8. Studi ecotossicologici

#### Introduzione

- i) Le informazioni fornite, insieme a quelle precisate per uno o più preparati contenenti la sostanza attiva, devono essere sufficienti a permettere una valutazione dell'impatto sulle specie non bersaglio (flora e fauna) che potrebbero presentare rischi da esposizione alla sostanza attiva, ai suoi metaboliti e ai prodotti di reazione e di degradazione, se di rilevanza ambientale. L'impatto può risultare da un'esposizione singola, prolungata o ripetuta e può essere reversibile o irreversibile.
- ii) Le informazioni fornite relative alla sostanza attiva, insieme ad altre informazioni pertinenti e con quelle fornite a riguardo dei preparati che la contengono, devono essere sufficienti per:
  - decidere se la sostanza attiva possa essere approvata o meno,
  - specificare le opportune condizioni o limitazioni a cui subordinare l'eventuale approvazione,
  - permettere una valutazione dei rischi a breve e lungo termine per le specie non bersaglio — popolazioni, comunità e processi — secondo i casi,
  - classificare la sostanza attiva in base alla sua pericolosità,
  - specificare le precauzioni occorrenti per la protezione delle specie non bersaglio, e
  - specificare i pittogrammi, le avvertenze, le indicazioni di pericolo e i consigli di prudenza ai fini della protezione dell'ambiente da apporre sull'imballaggio (contenitori);
- iii) È necessario che tutti gli effetti potenzialmente dannosi scoperti durante gli studi ecotossicologici di routine siano riportati nella relazione e che, se richiesto dalle autorità competenti, vengano intrapresi e indicati studi addizionali che si rendessero necessari allo scopo di studiare i probabili meccanismi implicati e di valutare l'importanza di questi effetti. La relazione deve riportare tutti i dati e tutte le informazioni di ordine biologico disponibili e utili per la valutazione del profilo ecotossicologico della sostanza attiva.
- iv) Le informazioni sul destino e sul comportamento nell'ambiente, ottenute e presentate conformemente ai punti da 7.1 a 7.4 e quelle sui livelli dei residui nelle piante, ottenute e presentate conformemente alla sezione 6, hanno un'importanza fondamentale per la valutazione dell'impatto sulle specie non bersaglio in quanto, insieme con le informazioni sulla natura del preparato e sulle sue modalità d'uso, definiscono la natura e il grado di esposizione potenziale. Gli studi tossicocinetici e tossicologici e le informazioni presentate ai sensi dei punti da 5.1. a 5.8. forniscono informazioni essenziali per quanto riguarda la tossicità per i vertebrati e i meccanismi implicati.

(1) FORum for the Co-ordination of pesticide fate models and their Use (forum per il coordinamento dei modelli sul destino dei antiparassitari e sul loro utilizzo).

- v) Se del caso, si devono utilizzare appropriati metodi statistici per progettare le prove e per analizzare i risultati. La relazione deve riportare nei dettagli l'analisi statistica (ad esempio per tutti i valori puntuali stimati devono essere forniti gli intervalli di confidenza, con l'indicazione degli esatti valori di  $p$ , anziché la semplice affermazione significativo/non significativo).

#### *Sostanza di prova*

- vi) Deve essere presentata una descrizione dettagliata (specificata) del materiale usato, come stabilito al punto 1.11. Se le prove vengono effettuate utilizzando la sostanza attiva, il materiale impiegato deve corrispondere alla specifica che verrà usata nella produzione dei preparati per i quali si chiede l'autorizzazione, salvo nel caso in cui venga utilizzato materiale radiomarcato.
- vii) Qualora gli studi vengano svolti utilizzando una sostanza attiva prodotta in laboratorio o in un sistema di produzione di un impianto pilota, gli studi devono essere ripetuti con l'utilizzo della sostanza attiva prodotta, salvo nel caso in cui si possa dimostrare che il materiale usato nelle prove è sostanzialmente uguale ai fini delle prove e della valutazione ecotossicologiche. In caso di incertezza devono essere presentati appropriati studi di connessione in base ai quali si possa decidere se sia necessario ripetere gli studi.
- viii) Nel caso di studi in cui la somministrazione si protragga nel tempo, si deve utilizzare preferibilmente una singola partita di sostanza attiva, se la stabilità lo permette.

Tutte le volte che uno studio implica l'uso di dosi differenti, la documentazione deve riportare la relazione esistente tra la dose e gli effetti indesiderati.

- ix) Per tutti gli studi di ingestione alimentare, va riportata la dose media realizzata, inclusa se possibile la dose in mg/kg di peso corporeo. Se le dosi vengono somministrate con la dieta, la sostanza in esame deve essere distribuita in modo uniforme nella dieta.
- x) Può essere necessario effettuare studi separati per i metaboliti e per i prodotti di degradazione o di reazione qualora questi prodotti possano rappresentare un rischio rilevante per organismi non bersaglio e i loro effetti non possano essere valutati in base ai risultati relativi alla sostanza attiva. Prima di eseguire tali studi, si deve tener conto delle informazioni di cui alle sezioni 5, 6 e 7.

#### *Organismi di prova*

- xi) Allo scopo di facilitare la valutazione della significatività dei risultati ottenuti nelle prove, inclusa una stima della tossicità intrinseca e dei fattori che influiscono sulla tossicità, si deve usare, se possibile, lo stesso ceppo di ciascuna specie pertinente (o specie della stessa origine, che deve essere registrata) nelle varie prove di tossicità specificate.

### 8.1. *Effetti sugli uccelli*

#### 8.1.1. *Tossicità orale acuta*

##### *Scopo delle prove*

La prova deve fornire possibilmente i valori di  $DL_{50}$ , la dose letale di soglia, l'andamento nel tempo della risposta e del recupero e il NOEL, e deve includere i rilevamenti patologici evidenti pertinenti.

##### *Circostanze di necessità delle prove*

A meno che la sostanza attiva sia destinata ad essere usata unicamente in preparati per uso esclusivo in spazi chiusi (ad esempio, serre o locali di magazzino di prodotti alimentari), devono essere studiati gli effetti possibili della sostanza attiva sugli uccelli.

##### *Condizioni sperimentali*

Si deve determinare la tossicità orale acuta della sostanza attiva per una delle specie di quaglie [quaglia giapponese — *Coturnix coturnix japonica* — o Bobwhite — (*Colinus virginianus*) o per l'anatra selvatica (*Anas platyrhynchos*)]. La dose più elevata utilizzata nelle prove non deve superare i 2 000 mg/kg di peso corporeo.

##### *Disciplinare per le prove*

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides.

### 8.1.2. Tossicità alimentare a breve termine

#### *Scopo delle prove*

La prova deve fornire la tossicità alimentare a breve termine [CL<sub>50</sub>, concentrazione letale minima (CLM), se possibile concentrazione senza effetto (NOEC), andamento nel tempo della risposta e del recupero] e includere i rilevamenti patologici evidenti pertinenti.

#### *Circostanze di necessità delle prove*

La tossicità alimentare (5 giorni) della sostanza attiva nei confronti degli uccelli deve sempre essere studiata su una specie, salvo nel caso in cui la relazione includa uno studio condotto secondo le disposizioni del successivo punto 8.1.3. Se il NOEL orale acuto è ≤ 500 mg/kg di peso corporeo o se il NOEC a breve termine è < 500 mg/kg di mangime, la prova deve essere eseguita anche su una seconda specie.

#### *Condizioni sperimentali*

La prima specie da studiare deve essere la quaglia o l'anatra selvatica. Se la prova deve essere condotta anche su una seconda specie, questa non deve essere della stessa famiglia della prima specie studiata.

#### *Disciplinare per le prove*

La prova deve essere eseguita secondo il metodo OCSE 205.

### 8.1.3. Tossicità subcronica e riproduzione

#### *Scopo delle prove*

La prova deve fornire la tossicità subcronica e la tossicità riproduttiva della sostanza attiva per gli uccelli.

#### *Circostanze di necessità delle prove*

La tossicità subcronica e riproduttiva della sostanza attiva nei confronti degli uccelli deve essere studiata salvo nel caso in cui si possa dimostrare l'improbabilità che si verifichi una esposizione continuativa o ripetuta di adulti o l'esposizione di siti di nidificazione durante la stagione riproduttiva.

#### *Disciplinare per le prove*

La prova deve essere eseguita secondo il metodo OCSE 206.

### 8.2. Effetti sugli organismi acquatici

I dati relativi alle prove di cui ai punti 8.2.1, 8.2.4 e 8.2.6 devono essere presentati per ogni sostanza attiva, anche se non è previsto che prodotti fitosanitari che la contengono possano raggiungere le acque superficiali nelle condizioni d'uso proposte. Tali dati devono essere presentati a norma dell'allegato I, parte 4, del regolamento (CE) n. 1272/2008.

I dati riportati devono essere suffragati da dati analitici sulle concentrazioni della sostanza di prova nel mezzo.

### 8.2.1. Tossicità acuta per i pesci

#### *Scopo delle prove*

La prova deve fornire la tossicità acuta (CL<sub>50</sub>) e dettagli degli effetti osservati.

#### *Circostanze di necessità delle prove*

La prova va sempre eseguita.

#### *Condizioni sperimentali*

La tossicità acuta della sostanza attiva deve essere determinata per la trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) e per una specie ittica di acque calde. Se si devono eseguire prove con metaboliti o con prodotti di degradazione o di reazione, deve essere usata la specie più sensibile tra le due su cui è stata provata la sostanza attiva.

#### *Disciplinare per le prove*

La prova deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo C1.

### 8.2.2. Tossicità cronica per i pesci

#### *Circostanze di necessità delle prove*

Occorre eseguire uno studio sulla tossicità cronica a meno che si possa motivare l'improbabilità di un'esposizione continuata o ripetuta di pesci oppure a meno che sia disponibile un adeguato studio su mesocosmo o microcosmo.

Per stabilire quale test eseguire occorre far riferimento al parere di esperti in materia. In particolare, per una sostanza attiva in merito alla quale via siano indicazioni di un certo possibile rischio (riguardo alla sua tossicità per i pesci o alla possibile esposizione), il richiedente deve richiedere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo di test da eseguire.

L'effettuazione di un test di tossicità sui pesci nelle prime fasi di vita può essere considerata opportuna se il valore dei fattori di bioaccumulazione è compreso tra 100 e 1 000 oppure se il valore CE<sub>50</sub> della sostanza attiva è < 0,1 mg/l.

Può essere adeguata l'esecuzione di un test sul ciclo di vita dei pesci se:

- il fattore di bioconcentrazione è superiore a 1 000 e l'eliminazione della sostanza attiva durante una fase di depurazione di 14 giorni è < 95 %, oppure se
- la sostanza è stabile in acqua o in sedimenti (DT<sub>90</sub> > 100 giorni).

Non è necessario eseguire un test di tossicità cronica sul novellame se è stato eseguito un test di tossicità sui pesci nelle prime fasi di vita o un test sul ciclo di vita dei pesci; analogamente non è necessario eseguire un test di tossicità sui pesci nelle prime fasi di vita se è stato effettuato un test sul ciclo di vita dei pesci.

#### 8.2.2.1. *Prova di tossicità sul novellame*

##### Scopo delle prove

La prova deve fornire dati sugli effetti sulla crescita, sulla soglia per gli effetti letali e per gli effetti osservati, il NOEC e dettagli degli effetti osservati.

##### Condizioni sperimentali

Il test deve essere effettuato su novellame di trota iridea dopo un'esposizione di 28 giorni alla sostanza attiva. Devono essere ottenuti dati relativi agli effetti sulla crescita e sul comportamento.

#### 8.2.2.2. *Prova di tossicità per i pesci nelle prime fasi di vita*

##### Scopo delle prove

La prova deve fornire dati relativi agli effetti sulla crescita, sullo sviluppo e sul comportamento, il NOEC e dettagli degli effetti osservati sui pesci nelle prime fasi di vita.

##### Disciplinare per le prove

La prova deve essere eseguita secondo il metodo OCSE 210.

#### 8.2.2.3. *Prova sul ciclo di vita dei pesci*

##### Scopo della prova

La prova deve fornire gli effetti sulla riproduzione della generazione parentale e sulla vitalità della generazione filiale.

##### Condizioni sperimentali

Prima di effettuare gli studi in parola il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo e le condizioni degli studi da effettuare.

### 8.2.3. Bioconcentrazione nei pesci

#### *Scopo delle prove*

La prova deve fornire i fattori di bioconcentrazione (BCF) allo stato stazionario, le costanti del tasso di assunzione e le costanti del tasso di depurazione calcolate per ciascun composto di prova, e limiti di confidenza pertinenti.

*Circostanze di necessità delle prove*

La relazione deve contenere uno studio del potenziale di bioconcentrazione delle sostanze attive, dei metaboliti e dei prodotti di degradazione e di reazione, che hanno probabilità di ripartirsi nei tessuti grassi (ad esempio  $\log p_{ow} \geq 3$  — cfr. punto 2.8 o altre indicazioni pertinenti di bioconcentrazione), salvo nel caso in cui si possa dimostrare l'improbabilità di un'esposizione che comporti bioconcentrazione.

*Disciplinare per le prove*

La prova deve essere eseguita secondo il metodo OCSE 305E.

## 8.2.4. Tossicità acuta per gli invertebrati acquatici

*Scopo delle prove*

La prova deve fornire la tossicità acuta a 24 e a 48 ore della sostanza attiva, espressa come concentrazione mediana efficace (CE<sub>50</sub>) per l'immobilizzazione e, se possibile, la concentrazione massima che non provoca immobilizzazione.

*Circostanze di necessità delle prove*

La tossicità acuta deve sempre essere determinata per la *Daphnia* (preferibilmente la *Daphnia magna*). Nel caso che i prodotti fitosanitari contenenti la sostanza attiva siano destinati ad essere utilizzati direttamente nelle acque di superficie, la relazione deve contenere dati aggiuntivi su almeno una specie rappresentativa di ciascuno dei gruppi seguenti: insetti acquatici, crostacei acquatici (su una specie non correlata con la *Daphnia*) e molluschi gasteropodi acquatici.

*Disciplinare per le prove*

La prova deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo C2.

## 8.2.5. Tossicità cronica per gli invertebrati acquatici

*Scopo delle prove*

La prova deve fornire, se possibile, i valori di CE<sub>50</sub> per effetti come l'immobilizzazione, la riproduzione e la concentrazione massima alla quale non si verificano effetti sulla mortalità né sulla riproduzione (NOEC), nonché dettagli degli effetti osservati.

*Circostanze di necessità delle prove*

Occorre eseguire una prova su *Daphnia magna*, e almeno su una specie rappresentativa di insetti acquatici e su una specie di molluschi gasteropodi acquatici, salvo nel caso in cui si possa dimostrare l'improbabilità che si verifichi un'esposizione continuativa o ripetuta.

*Condizioni sperimentali*

La prova con la *Daphnia* deve essere continuata per 21 giorni.

*Disciplinare per le prove*

La prova deve essere eseguita secondo il metodo OCSE 202, parte II.

## 8.2.6. Effetti sulla crescita delle alghe

*Scopo delle prove*

La prova deve fornire i valori di CE<sub>50</sub> per la crescita e la velocità di crescita, i valori di NOEC e dettagli degli effetti osservati.

*Circostanze di necessità delle prove*

Si devono riferire sempre eventuali effetti sulla crescita delle alghe causati dalle sostanze attive.

Per i diserbanti deve essere effettuato un test su una seconda specie appartenente ad un gruppo tassonomico differente.

*Disciplinare per le prove*

La prova deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo C3.

### 8.2.7. Effetti sugli organismi nei sedimenti

#### *Scopo della prova*

La prova misura gli effetti sulla sopravvivenza e sullo sviluppo (inclusi gli effetti sulla comparsa di individui adulti, per il Chironomus), i pertinenti valori di CE<sub>50</sub> e di NOEC.

#### *Circostanze di necessità delle prove*

Nel caso in cui i dati sul destino e sul comportamento ambientale di cui alla sezione 7 indichino che una sostanza attiva ha buone probabilità di ripartirsi e persistere in sedimenti acquatici, si deve ricorrere al parere di un esperto per decidere se sia necessaria una prova di tossicità acuta o cronica sul sedimento. Tale parere esperto deve tener conto del fatto che vi siano o meno probabili effetti su invertebrati che vivono nel sedimento in base al confronto dei dati di tossicità acquatica per gli invertebrati CE<sub>50</sub> dei punti 8.2.4. e 8.2.5. con i livelli previsti di sostanza attiva nei sedimenti in base ai dati di cui alla sezione 9 dell'allegato del regolamento (UE) n. 545/2011.

#### *Condizioni sperimentali*

Prima di effettuare gli studi il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo e le condizioni degli studi da effettuare.

### 8.2.8. Piante acquatiche

Per i diserbanti deve essere effettuato un test su piante acquatiche.

Prima di effettuare gli studi il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo e le condizioni degli studi da effettuare.

### 8.3. Effetti sugli artropodi

#### 8.3.1. Api

##### 8.3.1.1. Tossicità acuta

#### *Scopo delle prove*

La prova deve fornire il valore di DL<sub>50</sub> acuta orale e per contatto della sostanza attiva.

#### *Circostanze di necessità delle prove*

L'impatto potenziale sulle api deve essere studiato salvo nel caso in cui i preparati contenenti la sostanza attiva siano destinati all'uso esclusivo in situazioni nelle quali è improbabile che le api siano esposte, come:

- magazzino di prodotti alimentari in spazi chiusi,
- concia non sistemica dei semi,
- preparati non sistemici destinati ad essere applicati sul terreno,
- trattamenti per immersione non sistemici per il trapianto di colture e bulbi,
- trattamenti di chiusura e guarigione di ferite,
- esche rodenticide,
- uso in serre senza impollinatori.

#### *Disciplinare per le prove*

La prova deve essere eseguita secondo la direttiva OEPP 170.

##### 8.3.1.2. Prova di ingestione sulle larve delle api

#### *Scopo delle prove*

La prova deve fornire informazioni sufficienti per valutare possibili rischi per le larve di api derivanti dall'uso del prodotto fitosanitario.

#### Circostanze di necessità delle prove

La prova deve essere eseguita quando la sostanza attiva può agire come fattore di crescita degli insetti, a meno che si possa dimostrare l'improbabilità che vi siano esposte larve di api.

#### Disciplinare per le prove

La prova deve essere eseguita secondo il metodo ICPBR (ad esempio, P.A. Oomen, A. de Ruijter e J. van der Steen. Method for honeybee brood feeding tests with insect growth-regulating insecticides. OEPP Bulletin, volume 22, 613-616, 1992).

### 8.3.2. Altri artropodi

#### *Scopo delle prove*

La prova deve fornire informazioni sufficienti per valutare la tossicità (mortalità ed effetti subletali) della sostanza attiva su specie selezionate di artropodi.

#### *Circostanze di necessità delle prove*

Si devono studiare gli effetti su artropodi terrestri non bersaglio (ad esempio predatori o parassitoidi di organismi nocivi). Le informazioni ottenute su queste specie possono essere usate anche come indicazione della tossicità potenziale per altre specie non bersaglio viventi nello stesso ambiente. Queste informazioni sono richieste per tutte le sostanze attive, salvo nel caso in cui i preparati contenenti la sostanza attiva siano destinati all'uso esclusivo in situazioni nelle quali non sono esposti artropodi non bersaglio, come:

- magazzinaggio di prodotti alimentari in spazi chiusi,
- trattamenti di chiusura e guarigione di ferite,
- esche rodenticide.

#### *Condizioni sperimentali*

La prova deve essere eseguita inizialmente in laboratorio su un substrato artificiale (cioè una lastra di vetro o sabbia quarzifera, come più appropriato), a meno che in base ad altri studi si possano prevedere chiaramente effetti nocivi. In tali casi si devono utilizzare substrati più realistici.

La prova deve essere eseguita su due specie standard sensibili, un parassitoide e un acaro predatore (ad esempio *Aphidius rhopalosiphii* e *Typhlodromus pyri*). In aggiunta a queste specie, si deve eseguire la prova anche su altre due specie che siano significative per l'uso previsto della sostanza. Se possibile e opportuno, queste devono rappresentare gli altri due gruppi funzionali principali, predatori del terreno e predatori del fogliame. Nel caso si osservino effetti con specie significative per l'uso proposto del prodotto, si possono eseguire prove ulteriori al livello esteso di laboratorio/semicampo. La scelta delle specie significative per la prova deve seguire le proposte contenute in SETAC — Guidance document on regulatory testing procedures for pesticides with non-target arthropods<sup>(1)</sup>. La prova deve essere condotta a tassi equivalenti al tasso massimo raccomandato di applicazione sul campo.

#### *Disciplinare per le prove*

Se del caso, la prova deve essere eseguita secondo le appropriate indicazioni soddisfacenti almeno i requisiti di prova come specificato in SETAC — Guidance document on regulatory testing procedures for pesticides with non-target arthropods.

### 8.4. Effetti sui lombrichi

#### 8.4.1. Tossicità acuta

##### *Scopo delle prove*

La prova deve fornire il valore di CL<sub>50</sub> della sostanza attiva nei confronti dei lombrichi, se possibile la concentrazione massima che non provoca mortalità e la concentrazione minima che provoca il 100 % di mortalità, e deve includere gli effetti morfologici e comportamentali osservati.

<sup>(1)</sup> Dal Workshop European Standard Characteristics of beneficials Regulatory Testing (ESCORT), 28-30 marzo 1994, ISBN 0 9522535 2 6.

*Circostanze di necessità delle prove*

Gli effetti sui lombrichi devono essere studiati nel caso in cui i preparati contenenti la sostanza attiva vengano applicati al terreno o possano contaminarlo.

*Disciplinare per le prove*

La prova deve essere effettuata conformemente all'allegato del regolamento (CE) n. 440/2008, metodo C8, tossicità per i lombrichi: saggio su terreno artificiale.

## 8.4.2. Effetti subletali

*Scopo delle prove*

La prova deve fornire il NOEC e gli effetti sulla crescita, sulla riproduzione e sul comportamento.

*Circostanze di necessità delle prove*

Nel caso in cui, sulla base della modalità d'uso proposta dei preparati contenenti la sostanza attiva o sulla base del suo destino e del suo comportamento nel terreno ( $DT_{90} > 100$  giorni), sia possibile prevedere un'esposizione continuata o ripetuta di lombrichi alla sostanza attiva, o a quantità significative di metaboliti, prodotti di degradazione o di reazione, si deve ricorrere al parere di un esperto per decidere se possa essere utile una prova subletale.

*Condizioni sperimentali*

La prova deve essere condotta su *Eisenia foetida*.

## 8.5. Effetti su microrganismi non bersaglio del terreno

*Scopo delle prove*

La prova deve fornire dati sufficienti per valutare l'impatto della sostanza attiva sull'attività microbica del terreno in termini di trasformazione dell'azoto e mineralizzazione del carbonio.

*Circostanze di necessità delle prove*

La prova deve essere eseguita nel caso in cui preparati contenenti la sostanza attiva vengano applicati al terreno o lo possano contaminare nelle condizioni d'uso pratiche. Nel caso di sostanze attive destinate all'uso in preparati per la sterilizzazione del terreno, gli studi devono essere organizzati in modo da misurare i tassi di recupero dopo il trattamento.

*Condizioni sperimentali*

I terreni usati devono essere terreni agricoli appena campionati. I siti da cui viene prelevato il terreno non devono essere stati trattati nei due anni precedenti con alcuna sostanza che possa alterare in modo sostanziale la diversità e i livelli delle popolazioni microbiche presenti in maniera non transitoria.

*Disciplinare per le prove*

SETAC — Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides.

## 8.6. Effetti su altri organismi non bersaglio (flora e fauna) ritenuti a rischio

È necessario fornire un sommario dei dati disponibili, sia positivi che negativi, da prove preliminari utilizzate per valutare l'attività biologica e per individuare l'intervallo di dosaggio che possono fornire informazioni riguardo al possibile impatto su altre specie non bersaglio, sia appartenenti alla flora che alla fauna, insieme e una valutazione critica della loro importanza per l'impatto potenziale su specie non bersaglio.

## 8.7. Effetti su metodi biologici di trattamento delle acque reflue

Nel caso in cui l'uso di prodotti fitosanitari contenenti la sostanza attiva possa dar luogo ad effetti nocivi sugli impianti di trattamento delle acque reflue, la relazione deve riportare gli effetti sui metodi biologici di trattamento delle acque reflue.

## 9. Sintesi e valutazione delle sezioni 7 e 8

## 10. Proposte di classificazione e di etichettatura della sostanza attiva a norma del regolamento (CE) n. 1272/2008 compresa la giustificazione di dette proposte

— Pittogramma/i

- Avvertenze
- Indicazioni di pericolo
- Consigli di prudenza

11. **Un fascicolo come specificato nella parte A dell'allegato del regolamento (UE) n. 545/2011 per un prodotto fitosanitario rappresentativo**

PARTE B

**MICROORGANISMI (COMPRESI I VIRUS)**

**Introduzione**

- i) Le sostanze attive sono definite all'articolo 2, paragrafo 2, del regolamento (CE) n. 1107/2009; esse comprendono le sostanze chimiche e i microrganismi, compresi i virus.

La presente parte specifica le informazioni da trasmettere per le sostanze attive costituite da microrganismi, compresi i virus.

Il termine «microrganismo», come definito nell'articolo 3 del regolamento (CE) n. 1107/2009 si applica, tra l'altro, a batteri, funghi, protozoi, virus e viroidi.

- ii) Per tutti i microrganismi per i quali viene richiesta l'approvazione delle sostanze attive occorre presentare tutte le informazioni e la documentazione pertinenti disponibili allo stato attuale delle conoscenze.

Le informazioni più utili e significative sono fornite dalla caratterizzazione e dall'identificazione del microrganismo. Tali informazioni, definite nelle sezioni da 1 a 3 (identità, proprietà biologiche e altre informazioni), costituiscono la base di valutazione degli effetti sulla salute umana e sull'ambiente.

Di norma vengono richiesti dati recenti relativi a esperimenti tossicologici e/o patologici eseguiti su animali da laboratorio, salvo se il richiedente è in grado di dimostrare, sulla base delle informazioni precedenti, che l'utilizzazione dei microrganismi nelle condizioni proposte non ha effetti nocivi sulla salute dell'uomo o degli animali o sulle acque sotterranee, né un influsso inaccettabile sull'ambiente.

- iii) In attesa dell'adozione di linee guida specifiche a livello internazionale, le informazioni richieste devono essere ottenute applicando i disciplinari per le prove approvati dall'autorità competente [quali ad esempio quelli dell'USEPA <sup>(1)</sup>]; ove del caso, occorre modificare i disciplinari per le prove descritti nella parte A del presente allegato, adeguandoli ai microrganismi. Le prove devono comprendere microrganismi attivi e, ove del caso, inattivi, nonché un controllo in bianco.

- iv) Per le prove effettuate occorre fornire una descrizione dettagliata (specifica tecnica) del materiale utilizzato e delle impurezze ivi contenute, conformemente alle disposizioni del punto 1.4. Il materiale utilizzato deve corrispondere alle specifiche applicabili per la produzione dei preparati da autorizzare.

Qualora gli studi vengano svolti utilizzando microrganismi prodotti in laboratorio o in un sistema di produzione di un impianto pilota, gli studi devono essere ripetuti con l'utilizzo di microrganismi di produzione industriale, salvo nel caso in cui si possa dimostrare che il materiale usato nelle prove è sostanzialmente uguale ai fini delle prove e della valutazione.

- v) Nel caso di microrganismi geneticamente modificati, occorre presentare una copia della valutazione dei dati relativi al rischio stimato per l'ambiente, come previsto all'articolo 48 del regolamento (CE) n. 1107/2009.

- vi) Se del caso, i dati devono essere analizzati mediante appropriati metodi statistici. Devono essere riportati i dettagli completi dell'analisi statistica (ad esempio devono essere indicati tutti i valori con i relativi intervalli di confidenza e devono essere specificati gli esatti valori di p piuttosto che la semplice indicazione di significativo o non significativo).

<sup>(1)</sup> USEPA Microbial Pesticide Test Guidelines, OPPTS Series 885, febbraio 1996.

- vii) Nel caso di studi in cui la somministrazione si protragga nel tempo, si dovrebbe utilizzare preferibilmente una singola partita di microrganismi, se la stabilità lo permette.

Se gli studi non sono eseguiti utilizzando una singola partita di microrganismi, occorre specificare la similarità delle varie partite.

Tutte le volte che uno studio implica l'uso di dosi differenti, la documentazione deve riportare la relazione esistente tra la dose e gli effetti indesiderati.

- viii) Se è noto che l'azione di protezione fitosanitaria è dovuta all'effetto residuo di una tossina o di un metabolita o se è prevedibile la presenza significativa di tossine o metaboliti non riconducibili all'effetto della sostanza attiva, per tali tossine o metaboliti occorre presentare un fascicolo in conformità con i requisiti della parte A del presente allegato.

## 1. **Identità del microrganismo**

L'identificazione e la caratterizzazione del microrganismo forniscono le informazioni più significative e hanno notevole rilevanza ai fini della decisione.

### 1.1. *Richiedente*

Devono essere indicati il nome e l'indirizzo del richiedente nonché il nome, la qualifica, i numeri di telefono e di fax della persona da contattare.

Inoltre, nel caso in cui il richiedente disponga di un ufficio, un'agenzia o una rappresentanza nello Stato membro al quale viene presentata la richiesta di approvazione e nello Stato membro relatore incaricato dalla Commissione, se diverso dal primo, devono essere indicati il nome e l'indirizzo dell'ufficio locale, dell'agenzia o della rappresentanza, nonché il nome, la qualifica, il numero di telefono e di fax della persona da contattare.

### 1.2. *Produttore*

Dev'essere indicato il nome e l'indirizzo del produttore o dei produttori del microrganismo nonché il nome e l'indirizzo di ciascuno stabilimento di produzione. È necessario indicare un punto di contatto (di preferenza un punto di contatto centrale, con nome, numero di telefono e di fax), che fornisca informazioni aggiornate e risponda ai quesiti riguardanti la tecnologia di produzione, i procedimenti di produzione e la qualità del prodotto (ivi comprese, se del caso, partite singole). Nei casi in cui, a seguito all'approvazione del microrganismo, vi siano mutamenti nella sede o nel numero dei produttori, le informazioni richieste devono essere nuovamente notificate alla Commissione e agli Stati membri.

### 1.3. *Nome e descrizione delle specie, caratterizzazione del ceppo*

- i) È opportuno che il microrganismo sia depositato in una collezione di colture internazionalmente riconosciuta e dotato di un numero di registrazione; tali informazioni devono essere notificate.
- ii) Ciascun microrganismo oggetto della domanda deve essere identificato e designato con il nome della specie. Occorre indicare il nome scientifico e il gruppo tassonomico, cioè famiglia, genere, specie, ceppo, sierotipo, pathovar e qualsiasi altra denominazione pertinente del microrganismo.

Va precisato se il microrganismo:

— è indigeno o non indigeno, a livello della specie, della zona prevista d'applicazione,

— è un ceppo selvatico,

— è un mutante spontaneo o indotto,

— è stato modificato mediante le tecniche descritte nella parte 2 dell'allegato I A e nell'allegato I B della direttiva 2001/18/CE del Parlamento europeo e del Consiglio<sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> GU L 106 del 17.4.2001, pag. 1.

Negli ultimi due casi occorre indicare tutte le differenze note tra il microrganismo modificato e il ceppo selvatico iniziale.

- iii) Per identificare e caratterizzare il microrganismo a livello del ceppo va utilizzata la migliore tecnologia disponibile. Occorre specificare le procedure e i criteri usati per l'identificazione (ad esempio morfologia, biochimica, sierologia, identificazione molecolare).
- iv) Occorre indicare il nome comune o i nomi alternativi o sostitutivi e, se del caso, i nomi in codice utilizzati durante lo sviluppo.
- v) Occorre indicare i rapporti con agenti patogeni noti.

#### 1.4. *Specifiche del materiale utilizzato per la fabbricazione di prodotti formulati*

##### 1.4.1. Tenore del microrganismo

Occorre indicare il tenore minimo o massimo del microrganismo nel materiale utilizzato per la fabbricazione di prodotti formulati, espresso in termini adeguati, quali il numero di unità attive per volume o peso o in qualsiasi altro modo pertinente per il microrganismo considerato.

Nei casi in cui le informazioni disponibili fornite si riferiscano ad un sistema di produzione di un impianto pilota, esse dovranno essere nuovamente comunicate alla Commissione e agli Stati membri una volta che siano stati definiti metodi e procedimenti di produzione su scala industriale, nel caso in cui il cambiamento del sistema di produzione si traduca in una diversa specificazione della purezza.

##### 1.4.2. Identità e tenore di impurezze, additivi, microrganismi contaminanti

Per quanto possibile, è auspicabile che i prodotti fitosanitari non contengano contaminanti (compresi i microrganismi contaminanti). Il livello e la natura di contaminanti ammissibili vanno stabiliti dall'autorità competente sulla base di una valutazione dei rischi.

Ove sia possibile e utile, occorre comunicare l'identità e il tenore massimo (espresso con l'idonea unità di misura) di tutti i microrganismi contaminanti. Ove possibile, i dati relativi all'identità devono essere forniti conformemente a quanto specificato nel punto 1.3 della parte B del presente allegato.

Occorre identificare e caratterizzare, in diversi stati o stadi di crescita del microrganismo i metaboliti rilevanti (cioè che rappresentano un potenziale fattore di rischio per la salute umana e/o l'ambiente) prodotti dal microrganismo [cfr. punto viii) della presente introduzione].

Ove del caso, occorre fornire informazioni particolareggiate su tutti i componenti, quali condensati, terreni di coltura, ecc.

Per le impurezze chimiche che rappresentano un rischio per la salute umana e/o l'ambiente occorre indicare l'identità e il tenore massimo, espressi in termini adeguati.

Per gli additivi occorre specificare l'identità e il tenore espresso in g/kg.

I dati relativi all'identità di sostanze chimiche quali additivi devono essere forniti conformemente a quanto specificato nel punto 1.10. della parte A del presente allegato.

##### 1.4.3. Profilo analitico delle partite

Ove del caso, occorre comunicare i dati di cui al punto 1.11. della parte A del presente allegato, utilizzando unità di misura adeguate.

## 2. **Proprietà biologiche del microrganismo**

### 2.1. *Storia del microrganismo e suoi usi. Presenza in natura e distribuzione geografica*

Occorre presentare la familiarità del microrganismo, intesa come la disponibilità di conoscenze pertinenti.

#### 2.1.1. Antecedenti

Occorre presentare gli antecedenti del microrganismo e la sua utilizzazione (prove/progetti di ricerca o utilizzazione commerciale).

### 2.1.2. Origine e presenza in natura

Devono essere indicate la regione geografica e la posizione nell'ecosistema (ad esempio la pianta o l'animale ospite, o il terreno in cui il microrganismo è stato isolato), precisando il metodo di isolamento utilizzato. Le informazioni riguardanti la presenza in natura del microrganismo nell'ambiente di cui trattasi vanno fornite, se possibile, a livello del ceppo.

Nel caso di un mutante o di un microrganismo geneticamente modificato, è opportuno fornire informazioni dettagliate sulla sua produzione e sul suo isolamento, nonché sugli elementi atti a distinguerlo chiaramente dal ceppo originario selvatico.

## 2.2. Informazioni sull'organismo/sugli organismi bersaglio

### 2.2.1. Descrizione dell'organismo/degli organismi bersaglio

Se del caso, è necessario precisare gli organismi nocivi sui quali agisce il prodotto.

### 2.2.2. Meccanismo d'azione

Occorre indicare il principale meccanismo d'azione, specificando inoltre a tale riguardo se il microrganismo produce una tossina avente un effetto residuo sull'organismo bersaglio. In questo caso occorre descrivere il meccanismo d'azione della tossina.

Ove del caso, occorre fornire informazioni riguardanti il punto di infezione e il modo di penetrazione nell'organismo bersaglio, nonché le sue fasi sensibili. I risultati di eventuali studi sperimentali devono essere documentati.

Occorre precisare le possibili vie di assorbimento (contatto, ingestione, inalazione) del microrganismo o dei suoi metaboliti (in particolare le tossine). È altresì necessario specificare se il microrganismo o i suoi metaboliti si trasferiscono o meno nelle piante e, se del caso, come avviene tale trasferimento.

In caso di effetto patogeno sull'organismo bersaglio, occorre precisare la dose infettiva (dose necessaria per infettare una specie bersaglio con l'effetto desiderato) e la trasmissibilità [possibilità di diffusione del microrganismo nella popolazione bersaglio, ma anche da una specie bersaglio ad un'altra specie (bersaglio)] a seguito dell'applicazione nelle condizioni di utilizzazione proposte.

### 2.3. Spettro di specificità dell'ospite ed effetti su specie diverse dall'organismo nocivo bersaglio

È necessario fornire tutte le informazioni disponibili sugli effetti su organismi non bersaglio nella zona di possibile propagazione del microrganismo, segnalando anche la presenza di organismi non bersaglio strettamente collegati alle specie bersaglio o particolarmente esposti.

È necessario comunicare eventuali esperienze riguardanti la tossicità della sostanza attiva o dei suoi metaboliti per l'uomo o gli animali, precisando se l'organismo è in grado di colonizzare o di invadere essere umani o animali (compresi i soggetti immunodepressi) e se ha effetti patogeni. Occorre altresì segnalare qualsiasi esperienza atta a rivelare se la sostanza attiva o i suoi derivati sono irritanti per la pelle, gli occhi o gli organi respiratori di esseri umani o animali o se possono provocare reazioni allergiche in caso di contatto cutaneo o di inalazione.

### 2.4. Stadi di sviluppo/ciclo di vita del microrganismo

Devono essere fornite informazioni riguardanti il ciclo di vita del microrganismo, i casi descritti di simbiosi e di parassitismo, i competitori, i predatori, ecc., compresi gli organismi ospiti, nonché i vettori per i virus.

Occorre precisare il tempo di generazione e il tipo di riproduzione del microrganismo.

Devono essere fornite informazioni sulle fasi di riposo, e la loro durata di vita, la virulenza e il potenziale infettivo del microrganismo.

Occorre indicare se, nelle varie fasi di sviluppo successive alla liberazione, il microrganismo può produrre metaboliti, tra cui tossine potenzialmente pericolose per la salute umana e/o l'ambiente.

### 2.5. Infettività, capacità di diffusione e di colonizzazione

Devono essere fornite informazioni sulla persistenza del microrganismo e sul suo ciclo di vita nelle condizioni ambientali caratteristiche dell'impiego previsto, segnalando inoltre se esso è particolarmente sensibile a determinate componenti ambientali (ad esempio raggi ultravioletti, suolo, acqua).

Occorre indicare le condizioni ambientali (temperatura, pH, umidità, nutrienti, ecc.) necessarie per la sopravvivenza, la riproduzione, la colonizzazione, la lesione (anche di tessuti umani) e l'efficacia del microrganismo. Va segnalata la presenza di fattori specifici di virulenza.

Deve essere determinato l'intervallo di temperature nel quale è possibile la proliferazione del microrganismo, precisando la temperatura minima, massima e ottimale. Tali informazioni sono di particolare utilità per studiare gli effetti sulla salute umana (sezione 5).

Occorre altresì indicare eventuali effetti prodotti da fattori quali la temperatura, i raggi ultravioletti, il pH e la presenza di talune sostanze sulla stabilità delle tossine in questione.

Vanno fornite informazioni sulle possibili vie di dispersione del microrganismo in condizioni ambientali tipiche (attraverso l'aria — particelle di polvere o aerosol — o attraverso organismi ospiti che fungono da vettori).

2.6. *Rapporti con agenti patogeni noti per le piante, gli animali o per l'uomo*

È necessario indicare l'eventuale esistenza di una o più specie del genere del microrganismo attivo e, se del caso, dei contaminanti, che hanno un effetto patogeno noto sull'uomo, gli animali, le colture agrarie o altre specie non bersaglio, precisando il tipo di malattia cagionata. Occorre indicare se sia possibile, e in che modo, distinguere chiaramente il microrganismo attivo dalle specie patogene.

2.7. *Stabilità genetica e fattori che la influenzano*

Ove del caso occorre fornire informazioni sulla stabilità genetica (ad esempio tasso di mutazione dei caratteri relativi al meccanismo d'azione o assorbimento di materiale genetico esogeno) nelle condizioni ambientali dell'uso proposto.

Occorre altresì fornire dati sulla capacità del microrganismo di trasferire materiale genetico ad altri microrganismi, nonché di produrre effetti patogeni sui vegetali, sugli animali o sull'uomo. Se il microrganismo presenta elementi genetici supplementari, va indicata la stabilità dei caratteri codificati.

2.8. *Informazioni sulla produzione di metaboliti (in particolare tossine)*

Se altri ceppi appartenenti alla stessa specie microbica del ceppo che forma oggetto della domanda producono metaboliti (in particolare tossine) che, durante o a seguito dell'applicazione, hanno effetti inaccettabili sulla salute dell'uomo e/o sull'ambiente, occorre specificare la natura e la struttura della sostanza prodotta, la sua presenza all'interno o all'esterno della cellula, la sua stabilità, il suo meccanismo d'azione (precisando i fattori esogeni ed endogeni necessari per l'azione del microrganismo), nonché i suoi effetti sull'uomo, sugli animali o su altre specie non bersaglio.

È necessario descrivere le condizioni di produzione del metabolita o dei metaboliti (in particolare tossine).

Vanno fornite tutte le informazioni disponibili riguardanti il meccanismo in base al quale i microrganismi regolano la produzione del metabolita o dei metaboliti.

Vanno altresì fornite informazioni sull'influenza che i metaboliti prodotti esercitano sul meccanismo d'azione del microrganismo.

2.9. *Antibiotici e altri agenti antimicrobici*

Molti microrganismi producono sostanze antibiotiche. Occorre evitare qualsiasi interferenza con l'impiego di antibiotici nella medicina umana o veterinaria in ogni stadio dello sviluppo di un prodotto fitosanitario microbico.

Occorre fornire informazioni sulla resistenza o sulla sensibilità del microrganismo agli antibiotici o ad altri agenti antimicrobici, con particolare riguardo alla stabilità dei geni che codificano per la resistenza antibiotica, salvo qualora si possa dimostrare che il microrganismo non ha effetti nocivi sulla salute dell'uomo o degli animali, o che non può trasferire la propria resistenza agli antibiotici e ad altri agenti antimicrobici.

3. **Altre informazioni sul microrganismo**

*Introduzione*

- i) È necessario precisare le finalità, la dose e le modalità d'impiego effettive o proposte dei preparati contenenti il microrganismo.

- ii) Le informazioni fornite devono specificare i normali metodi e le normali precauzioni di manipolazione, conservazione e trasporto del microrganismo.
- iii) Gli studi, i dati e le informazioni presentati devono dimostrare l'idoneità delle misure proposte ad affrontare eventuali situazioni d'emergenza.
- iv) Le informazioni e i dati in questione sono necessari per ciascun microrganismo, salvo in caso di indicazione diversa.

### 3.1. Funzione

La funzione biologica della sostanza dev'essere specificata scegliendola fra le seguenti:

- battericida,
- fungicida,
- insetticida,
- acaricida,
- molluschicida,
- nematocida,
- erbicida,
- altri (specificare).

### 3.2. Campo di impiego previsto

Il campo o i campi di impiego attuali e quelli proposti per i preparati contenenti il microrganismo devono essere specificati scegliendoli tra i seguenti:

- uso in campo, per agricoltura, orticoltura, silvicoltura e viticoltura,
- colture protette (ad esempio in serra),
- aree di svago (parchi pubblici, ecc.),
- diserbante in zone non coltivate,
- impiego in giardinaggio domestico,
- per piante da interni,
- conservazione di prodotti immagazzinati,
- altri (specificare).

### 3.3. Colture o prodotti protetti o trattati

È necessario precisare l'impiego attuale e previsto su colture, gruppi di colture, piante o prodotti vegetali protetti.

### 3.4. Metodo di produzione e controllo della qualità

Occorre fornire una descrizione particolareggiata del metodo di produzione del microrganismo in grande scala.

Il richiedente deve garantire un controllo permanente della qualità sia del metodo/processo di produzione che del prodotto. In particolare, va sorvegliata l'insorgenza di qualsiasi modificazione spontanea delle principali caratteristiche del microrganismo, nonché la presenza/assenza di contaminanti significativi. È opportuno indicare i criteri applicabili al controllo di qualità della produzione.

Occorre descrivere e specificare le tecniche utilizzate per assicurare l'uniformità del prodotto e i metodi di prova finalizzati alla normalizzazione, conservazione e purezza del microrganismo (ad esempio HACCP).

3.5. *Informazioni sull'eventuale sviluppo di resistenza dell'organismo/degli organismi bersaglio*

È necessario fornire informazioni sull'eventuale sviluppo di resistenza o resistenza incrociata dell'organismo o degli organismi bersaglio, descrivendo, ove possibile, opportune strategie di prevenzione.

3.6. *Metodi per prevenire la perdita di virulenza del ceppo madre del microrganismo*

È necessario illustrare i metodi atti a prevenire la perdita di virulenza delle colture iniziali.

Va altresì descritto qualsiasi altro metodo eventualmente disponibile inteso a prevenire la perdita di efficacia del microrganismo sulle specie bersaglio.

3.7. *Metodi e precauzioni raccomandati per la manipolazione, il magazzinaggio, il trasporto o in caso di incendio*

Per ciascun microrganismo è necessario fornire una scheda di dati di sicurezza a norma dell'articolo 31 del regolamento (CE) n. 1907/2006 del Parlamento europeo e del Consiglio.

3.8. *Metodi di distruzione o di decontaminazione*

In molti casi il sistema preferibile, oppure l'unico possibile per uno smaltimento sicuro di microrganismi, materiali o imballaggi contaminati consiste nell'incenerimento controllato effettuato in un inceneritore autorizzato.

Dev'essere fornita una descrizione particolareggiata dei metodi utilizzati per eliminare in modo sicuro il microrganismo o, se necessario, per ucciderlo prima di eliminarlo, nonché dei sistemi di smaltimento degli imballaggi e dei materiali contaminati. È necessario fornire dati atti a determinare l'efficacia e la sicurezza di siffatti metodi.

3.9. *Misure in caso di incidente*

Devono essere specificate le procedure utilizzate per rendere innocuo il microrganismo nell'ambiente (ad esempio nell'acqua o nel suolo) in caso di incidente.

4. **Metodi analitici**

*Introduzione*

La presente sezione verte esclusivamente sui metodi analitici richiesti per il controllo post-registrazione e per la sorveglianza.

Tutti i parametri relativi alla valutazione dei rischi possono formare oggetto di controlli successivamente all'approvazione. Ciò vale in particolar modo nel caso in cui una domanda verta su (ceppi di) microrganismi non indigeni della zona prevista d'applicazione. Per i metodi analitici impiegati ai fini dell'elaborazione di dati, in conformità del presente regolamento, o per altri scopi, il richiedente deve giustificare il metodo utilizzato; se necessario verranno messe a punto apposite istruzioni per questo tipo di metodi sulla base degli stessi requisiti prescritti per i metodi impiegati a fini di controllo post-registrazione e di sorveglianza.

Devono essere fornite descrizioni di metodi comprendenti informazioni particolareggiate sulle attrezzature e i materiali utilizzati e le condizioni necessarie. Deve essere segnalata l'applicabilità di qualsiasi metodo internazionalmente riconosciuto.

Ove possibile, questi metodi devono essere semplici, economici e basati sull'impiego di attrezzature comunemente disponibili.

Per i metodi d'analisi dei microrganismi e dei loro residui occorre inoltre fornire dati relativi alla specificità, alla linearità, alla precisione e alla ripetibilità, in conformità dei punti 4.1 e 4.2 della parte A del presente allegato.

Ai fini della presente sezione si applicano le seguenti definizioni:

Impurezze, metaboliti, metaboliti rilevanti, residui	Come definiti nel regolamento (CE) n. 1107/2009
Impurezze rilevanti	Impurezze, secondo la precedente definizione, che costituiscono un rischio per la salute umana o animale e/o l'ambiente

Devono essere forniti, su richiesta, i seguenti campioni:

- i) campioni del microrganismo prodotto;
- ii) metodi di analisi dei metaboliti rilevanti (specialmente le tossine) e/o di altri componenti compresi nella definizione di residuo;
- iii) se disponibili, campioni delle sostanze di riferimento delle impurezze rilevanti.

#### 4.1. *Metodi per l'analisi del microrganismo prodotto*

- Metodi per l'identificazione del microrganismo.
- Metodi per ottenere informazioni sulla possibile variabilità del ceppo madre/microrganismo attivo.
- Metodi per differenziare i mutanti del microrganismo dal ceppo selvatico originario.
- Metodi per stabilire e controllare la purezza del ceppo dal quale sono stati prodotte le varie partite.
- Metodi per determinare il tenore del microrganismo nel materiale usato per la produzione dei prodotti formulati e metodi per dimostrare che i microrganismi contaminanti sono controllati a livelli accettabili.
- Metodi per la determinazione di impurezze rilevanti nel materiale fabbricato.
- Metodi per verificare l'assenza e quantificare (con idonei limiti di determinazione) la presenza di eventuali patogeni per l'uomo e i mammiferi.
- Metodi per determinare la stabilità durante il magazzinaggio e la conservabilità del microrganismo, ove del caso.

#### 4.2. *Metodi per determinare e quantificare i residui (vitali o non vitali)*

- del microrganismo attivo/dei microrganismi attivi,
- dei metaboliti rilevanti (specialmente le tossine),

sulle e/o nelle colture agrarie, negli alimenti per l'uomo e per gli animali, nei tessuti e liquidi biologici umani e animali, nel suolo, nell'acqua (comprese l'acqua potabile, le acque sotterranee e le acque superficiali) e nell'aria, a seconda dei casi.

Si raccomanda di includere anche metodi analitici per determinare il tenore o l'attività dei prodotti proteici, quali l'analisi delle colture in fase esponenziale e dei surnatanti in test su cellule animali.

### 5. **Effetti sulla salute umana**

#### *Introduzione*

- i) Le informazioni disponibili sulle proprietà del microrganismo e degli organismi corrispondenti (sezioni da 1 a 3), compresi rapporti medici e sanitari, possono essere sufficienti per determinare se il microrganismo può avere un effetto (infettivo/patogeno/tossico) sulla salute umana o meno.
- ii) Le informazioni fornite, insieme con quelle relative ad uno o più preparati contenenti il microrganismo, devono essere sufficienti a consentire una valutazione del rischio per l'uomo, direttamente o indirettamente associato alla manipolazione e all'utilizzazione di prodotti fitosanitari contenenti il microrganismo, del rischio per l'uomo conseguente alla manipolazione di prodotti trattati, nonché del rischio per l'uomo derivante da tracce di residui o contaminanti contenuti negli alimenti e nell'acqua. Inoltre, le informazioni fornite devono essere sufficienti per:
  - poter decidere se il microrganismo possa essere approvato o meno,

- specificare le opportune condizioni o limitazioni a cui subordinare l'eventuale approvazione,
  - (dopo l'inclusione) definire adeguate informazioni in materia di rischio e di sicurezza per la protezione dell'uomo, degli animali e dell'ambiente da apporre sull'imballaggio (contenitori),
  - precisare le misure di pronto soccorso e le opportune misure diagnostiche e terapeutiche in caso di infezione o di altri effetti nocivi nell'uomo.
- iii) Tutti gli effetti riscontrati nel corso delle ricerche devono essere riportati. Possono essere necessari studi supplementari al fine di individuare il probabile meccanismo d'azione e valutare l'importanza di tali effetti.
- iv) In tutti gli studi deve essere indicata la dose reale massima somministrata, espressa in unità che formano colonie per kg di peso corporeo (cfu/kg) e in altre unità adeguate.
- v) La valutazione del microrganismo deve essere effettuata secondo uno schema in più fasi.

La prima fase (Fase I) comprende le informazioni di base disponibili e gli studi di base che devono essere effettuati per tutti i microrganismi. Occorre far ricorso al parere di un esperto per definire caso per caso un idoneo programma di sperimentazione. Di norma vengono richiesti dati recenti relativi a esperimenti convenzionali tossicologici e/o patologici eseguiti su animali da laboratorio, salvo se il richiedente è in grado di dimostrare, sulla base delle informazioni precedenti, che l'utilizzazione del microrganismo nelle condizioni proposte non ha effetti nocivi sulla salute dell'uomo o degli animali. In attesa dell'adozione di orientamenti specifici a livello internazionale, le informazioni richieste saranno ottenute applicando i disciplinari per le prove esistenti (ad esempio USEPA, OPPTS).

Se i test della Fase I evidenziano effetti nocivi sulla salute, si eseguono gli studi relativi alla Fase II. Il tipo di indagine da effettuare è determinato in funzione degli effetti osservati in Fase I. Prima di eseguire tali studi, il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo di studio da eseguire.

#### FASE I

##### 5.1. *Informazioni di base*

Sono richieste informazioni di base sulla capacità dei microrganismi di determinare effetti negativi, ad esempio la capacità di colonizzare, di provocare danni e di produrre tossine e altri metaboliti rilevanti.

##### 5.1.1. *Dati medici*

Se disponibili e fatte salve le disposizioni dell'articolo 10 della direttiva 98/24/CE del Consiglio, devono essere forniti, se disponibili, informazioni e dati sperimentali utili per il riconoscimento dei sintomi di infezione o di patogenicità e per la valutazione dell'efficacia delle misure terapeutiche e di primo intervento. Se del caso, deve essere studiata, riportandone i risultati, l'efficacia dei potenziali antagonisti. Si devono indicare gli eventuali metodi per distruggere il microrganismo o per renderlo inoffensivo (cfr. punto 3.8.).

Se disponibili e se sufficientemente attendibili, sono di particolare utilità dati e informazioni inerenti agli effetti dell'esposizione dell'uomo per confermare la validità delle estrapolazioni e delle conclusioni concernenti gli organi bersaglio, la virulenza e la reversibilità degli effetti nocivi. Questi dati possono essere ottenuti in seguito ad esposizione professionale o accidentale.

##### 5.1.2. *Controlli medici sul personale dello stabilimento di produzione*

Devono essere presentate relazioni sui programmi di controllo sanitario sui lavoratori del settore, con informazioni particolareggiate sulla struttura del programma e sull'esposizione al microrganismo. Tali relazioni dovrebbero contenere, ove possibile, dati sul meccanismo d'azione del microrganismo e devono riportare dati, se disponibili, relativi a persone esposte negli impianti di produzione o dopo l'applicazione del microrganismo (ad esempio in prove di efficacia).

Particolare attenzione va prestata ai soggetti sensibili, ad esempio per precedenti malattie, assunzione di medicinali, immunodeficienza, gravidanza o allattamento.

### 5.1.3. Eventuali osservazioni su sensibilizzazione/allergenicità

Devono essere fornite le informazioni disponibili sulla sensibilizzazione e sulla risposta allergica di lavoratori — tra cui addetti agli impianti di produzione, agricoltori e ricercatori — e di altre persone esposte al microrganismo, specificando eventualmente l'incidenza dei casi d'ipersensibilità e di sensibilizzazione cronica. Queste informazioni devono inoltre precisare la frequenza, il livello e la durata dell'esposizione, i sintomi osservati ed altre osservazioni cliniche pertinenti. Si dovrà indicare se i lavoratori sono stati sottoposti a prove allergiche o anamnesi per eventuali sintomi di allergia.

### 5.1.4. Osservazione diretta, ad esempio casi clinici

Devono essere presentate le relazioni disponibili, tratte dalla letteratura — in particolare da pubblicazioni scientifiche o da relazioni ufficiali — e basate su casi clinici, concernenti il microrganismo in questione o organismi affini appartenenti allo stesso gruppo tassonomico, unitamente alle relazioni di eventuali verifiche a posteriori. Queste relazioni, particolarmente utili, devono contenere descrizioni complete della natura, del livello e della durata dell'esposizione, dei sintomi clinici osservati, delle misure terapeutiche e di primo intervento applicate, nonché le misurazioni e le osservazioni effettuate. Riassunti e informazioni frammentarie non sono di particolare utilità.

Se sono stati eseguiti studi su animali, la documentazione relativa ai casi clinici può essere di particolare utilità per confermare o meno la validità delle estrapolazioni dall'animale all'uomo e per individuare effetti dannosi imprevisti specifici dell'uomo.

### 5.2. Studi di base

Per poter interpretare correttamente i risultati ottenuti, è della massima importanza che i metodi di analisi proposti siano pertinenti dal punto di vista della sensibilità verso la specie, della via di somministrazione, e rilevanti dal punto di vista biologico e tossicologico. La scelta della via di somministrazione del microrganismo in esame dipende dalle principali vie di esposizione umana.

Per valutare gli effetti a medio e lungo termine conseguenti ad un'esposizione acuta, subacuta o semicronica a microrganismi, è necessario attenersi ai metodi descritti negli orientamenti OCSE, che prevedono il prolungamento degli studi in questione con un periodo di ripresa, al termine del quale si procederà ad un esame macroscopico e microscopico completo della patologia, compresa la ricerca di microrganismi nei tessuti e negli organi. Risulta così agevolata l'interpretazione di taluni effetti ed è possibile riconoscere l'infettività e/o la patogenicità, ciò che a sua volta consente di decidere in merito ad altre questioni quali la necessità di condurre ulteriori studi a lungo termine (cancerogenesi, ecc.; cfr. punto 5.3) e l'opportunità o meno di eseguire studi sui residui (cfr. punto 6.2).

#### 5.2.1. Sensibilizzazione<sup>(1)</sup>

##### *Scopo delle prove*

Il test deve fornire dati sufficienti per poter determinare la probabilità che il microrganismo provochi reazioni di sensibilizzazione cutanea o inalatoria. Si deve quindi eseguire uno studio di massima azione.

##### *Circostanze di necessità delle prove<sup>(2)</sup>*

Le informazioni sulla sensibilizzazione devono essere documentate.

#### 5.2.2. Tossicità acuta, patogenicità ed infettività

Gli studi, i dati e le informazioni da fornire e da valutare devono essere sufficienti per poter individuare gli effetti di una singola esposizione al microrganismo e, in particolare, per stabilire o indicare:

- la tossicità, la patogenicità e l'infettività del microrganismo,
- il decorso e le caratteristiche degli effetti, con indicazioni complete sui mutamenti comportamentali ed eventuali conclusioni macropatologiche post mortem,
- ove possibile, il modello dell'azione tossica,

<sup>(1)</sup> I metodi disponibili per i saggi di sensibilizzazione cutanea non sono adatti ai microrganismi. La sensibilizzazione per inalazione costituisce probabilmente un problema di portata maggiore rispetto all'esposizione cutanea ai microrganismi, ma finora non esistono metodi di analisi convalidati. È quindi estremamente importante mettere a punto metodi di questo tipo. Nel frattempo, tutti i microrganismi devono essere considerati come potenziali sensibilizzanti. Questo approccio permette di tener conto anche dei soggetti immunodeficienti o altrimenti sensibili (donne incinte, neonati, anziani, ecc.).

<sup>(2)</sup> A causa della mancanza di metodi di analisi idonei, tutti i microrganismi saranno considerati come potenziali sensibilizzanti, a meno che il richiedente non intenda dimostrare il carattere non sensibilizzante di un microrganismo, fornendo dati in proposito. Pertanto, la richiesta relativa alla comunicazione di dati non è da considerarsi obbligatoria, bensì facoltativa, a titolo provvisorio.

- il pericolo relativo inerente alle diverse vie di esposizione, e
- le analisi ematiche nell'intero corso delle ricerche, onde valutare l'eliminazione del microrganismo.

Gli effetti tossici/patogeni acuti possono essere accompagnati da infettività e/o da effetti a più lungo termine non osservabili immediatamente. Per poter valutare lo stato di salute, è dunque necessario effettuare studi sul potenziale infettivo del microrganismo legato all'assunzione per via orale, per inalazione e per iniezione intraperitoneale/sottocutanea in mammiferi da sperimentazione.

Nell'ambito degli studi sulla tossicità acuta, sulla patogenicità e sull'infettività, si deve valutare il tasso di eliminazione del microrganismo e/o della tossina attiva negli organi ritenuti rilevanti per l'esame microbico (fegato, reni, milza, polmoni, cervello, sangue e punto di inoculazione).

Le osservazioni, che devono essere effettuate con esperto discernimento scientifico, possono comprendere la numerazione del microrganismo in tutti i tessuti potenzialmente interessati (cioè che presentano lesioni) e negli organi principali (reni, cervello, fegato, polmoni, milza, vescica, sangue, ghiandole linfatiche, tratto gastrointestinale, ghiandola del timo, nonché lesioni nel punto di inoculazione) di animali morti o moribondi e al momento del sacrificio intermedio e finale.

I dati ottenuti dai test di tossicità acuta, patogenicità e infettività sono di particolare utilità per valutare i possibili pericoli conseguenti ad incidenti e i rischi per il consumatore dovuti all'esposizione a eventuali residui.

#### 5.2.2.1. *Tossicità orale acuta, patogenicità ed infettività*

Circostanze di necessità delle prove

Devono essere documentate la tossicità orale acuta, la patogenicità e l'infettività del microrganismo.

#### 5.2.2.2. *Tossicità acuta per inalazione, patogenicità ed infettività*

Circostanze di necessità delle prove

Devono essere documentate la tossicità acuta per via inalatoria, la patogenicità e l'infettività del microrganismo <sup>(1)</sup>.

#### 5.2.2.3. *Dose intraperitoneale/sottocutanea singola*

Il test intraperitoneale/sottocutaneo è considerato un saggio altamente sensibile che consente di dedurre, in particolare, l'infettività.

Circostanze di necessità delle prove

L'inoculazione intraperitoneale è richiesta in ogni caso per tutti i microrganismi. Tuttavia qualora la temperatura massima di proliferazione e di riproduzione sia inferiore a 37 °C, viene richiesto un test di tipo sottocutaneo.

#### 5.2.3. *Genotossicità*

*Circostanze di necessità delle prove*

Se il microrganismo produce esotossine (cfr. punto 2.8.), queste tossine e ogni altro metabolita rilevante presente nel terreno di coltura devono essere sottoposti ad una prova di genotossicità. Per queste prove su tossine e metaboliti va utilizzata, se possibile, la sostanza chimica depurata.

Se dagli studi di base non risulta la formazione di metaboliti tossici, la ricerca sul microrganismo stesso dipenderà dal giudizio degli esperti sulla validità e sulla pertinenza dei dati di base. Se si tratta di un virus, si dovrà discutere il rischio di mutagenesi per inserzione nelle cellule dei mammiferi o il rischio di cancerogenesi.

*Scopo delle prove*

Questi studi sono utili per:

- predire il potenziale genotossico,
- individuare precocemente gli agenti cancerogeni genotossici,
- chiarire il meccanismo d'azione di alcuni agenti cancerogeni.

<sup>(1)</sup> La prova di inalazione può essere sostituita da uno studio intratracheale.

È importante che venga adottato un approccio flessibile e che la scelta di ulteriori test venga effettuata in funzione dell'interpretazione dei risultati di ogni fase.

#### *Condizioni sperimentali <sup>(1)</sup>*

La genotossicità dei microrganismi cellulari sarà studiata, ove possibile, dopo la rottura delle cellule. Si dovrà giustificare il metodo impiegato per la preparazione del campione.

La genotossicità dei virus va studiata su isolati infettivi.

#### 5.2.3.1. Analisi in vitro

##### *Circostanze di necessità delle prove*

Devono essere descritti i risultati dei test di mutagenesi in vitro (prova batterica di mutazione genica, test di clastogenesi in cellule di mammiferi e test di mutazione genica in cellule di mammiferi).

#### 5.2.4. Coltura di cellule

Questa operazione deve essere documentata per i microrganismi che si riproducono all'interno delle cellule, come virus, viroidi o determinati batteri e protozoi, salvo nel caso in cui le informazioni di cui alle sezioni da 1 a 3 dimostrino chiaramente che il microrganismo non si riproduce negli organismi a sangue caldo. Per la coltura cellulare si useranno cellule o tessuti umani prelevati da organi diversi. La scelta può essere determinata dagli organi bersaglio previsti dopo l'infezione. In mancanza di colture di cellule o tessuti umani di particolari organi, si possono usare colture di cellule e tessuti di altri mammiferi. Per i virus, una considerazione essenziale è la capacità d'interagire con il genoma umano.

#### 5.2.5. Dati sulla tossicità e la patogenicità a breve termine

##### *Scopo delle prove*

Gli studi relativi alla tossicità a breve termine mirano a fornire dati sulla quantità di microrganismo tollerabile senza effetti tossici nelle condizioni dello studio. Queste ricerche forniscono dati utili sui rischi per i manipolatori e gli utilizzatori di preparati contenenti il microrganismo. In particolare, gli studi di tossicità a breve termine forniscono un quadro essenziale delle eventuali azioni cumulative imputabili al microrganismo e sui rischi per i lavoratori che possono esservi esposti intensivamente. Da questi studi si ottengono inoltre utili informazioni per la programmazione di studi sulla tossicità cronica.

Gli studi, i dati e le informazioni da fornire e da valutare devono essere sufficienti per poter individuare gli effetti conseguenti ad esposizioni ripetute al microrganismo e, in particolare, per stabilire o indicare:

- il rapporto tra dose ed effetto,
- la tossicità del microrganismo, incluso, se possibile, il NOAEL per le tossine,
- se del caso, gli organi bersaglio,
- il decorso e le caratteristiche degli effetti, con indicazioni complete sui mutamenti comportamentali ed eventuali conclusioni macropatologiche post mortem,
- gli effetti tossici specifici e le modificazioni patologiche prodotte,
- se del caso, la persistenza e la reversibilità di taluni effetti tossici osservati, dopo la sospensione del dosaggio,
- ove possibile, il modello dell'azione tossica, e
- il rischio relativo inerente alle diverse vie di esposizione.

Nell'ambito degli studi sulla tossicità a breve termine, si deve valutare il tasso di eliminazione del microrganismo dagli organi principali.

Si dovranno includere anche ricerche sui parametri di patogenicità e d'infettività.

<sup>(1)</sup> Poiché questi metodi di analisi sono stati concepiti per le sostanze chimiche solubili, è necessario adattarli ai microrganismi.

Circostanze di necessità delle prove

Deve essere documentata la tossicità a breve termine (minimo 28 giorni) del microrganismo.

La scelta delle specie da esaminare dev'essere motivata. La scelta della durata dello studio dipende dai dati sulla tossicità acuta e sulla velocità di eliminazione del microrganismo.

Per decidere quale via di somministrazione sia da preferirsi, ci si atterrà al parere degli esperti.

#### 5.2.5.1. *Effetti sulla salute conseguenti a esposizioni ripetute per via inalatoria*

I dati concernenti gli effetti sulla salute conseguenti a esposizione ripetuta per via inalatoria sono ritenuti necessari, in particolare, per la valutazione dei rischi nell'ambiente di lavoro. L'esposizione ripetuta potrebbe influire sulla capacità di eliminazione (ad esempio resistenza) dell'ospite (uomo). Inoltre, ai fini di una corretta valutazione del rischio, occorre valutare la tossicità a seguito di esposizione ripetuta a contaminanti, terreno di coltura, altri coformulanti e al microrganismo stesso. Si dovrà tenere conto del fatto che i coformulanti presenti nel prodotto fitosanitario possono influenzare la tossicità e l'infettività di un microrganismo.

Circostanze di necessità delle prove

Occorrono dati sull'infettività, sulla patogenicità e sulla tossicità a breve termine (per via respiratoria) del microrganismo, salvo se le informazioni disponibili sono sufficienti a valutare gli effetti sulla salute umana. Ciò dicasi nel caso in cui sia dimostrato che il materiale di prova non ha alcuna frazione inalabile e/o che non è prevista un'esposizione ripetuta.

#### 5.2.6. *Trattamento proposto: pronto soccorso, terapia medica*

Devono essere indicate le misure di pronto soccorso in caso di infezione e in caso di contaminazione oculare.

Devono essere descritti in dettaglio i trattamenti terapeutici da applicare in caso di ingestione o di contaminazione oculare e/o cutanea. Devono essere fornite informazioni — basate sull'esperienza pratica, se disponibili, o su fondamenti teorici, in caso contrario — sull'efficacia di eventuali trattamenti alternativi.

Devono essere fornite informazioni sulla resistenza agli antibiotici.

*(FINE DELLA FASE I)*

FASE II

#### 5.3. *Studi sulla tossicità, sulla patogenicità e sull'infettività specifiche*

In certi casi può essere necessario effettuare ricerche supplementari per chiarire ulteriormente gli effetti sull'uomo.

In particolare, se i risultati di studi precedenti rivelano che il microrganismo può provocare effetti a lungo termine sulla salute, si dovranno svolgere ricerche sulla tossicità, patogenicità e infettività croniche, sulla cancerogenesi e sulla tossicità riproduttiva. Inoltre, se il microrganismo produce tossine, occorre effettuare studi cinetici.

Questi studi devono essere progettati singolarmente, sulla base dei particolari parametri da osservare e degli obiettivi da conseguire. Prima di eseguire tali studi, il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo di studio da eseguire.

#### 5.4. *Studi in vivo su cellule somatiche*

Circostanze di necessità delle prove

Se tutti i risultati delle analisi in vitro sono negativi, si devono effettuare ulteriori prove, prendendo in considerazione altri dati pertinenti. Queste prove possono essere in vivo o in vitro basate su un sistema di metabolismo diverso da quello o da quelli precedentemente considerati.

Se l'esito del test citogenetico in vitro è positivo, deve essere effettuato un test in vivo su cellule somatiche (analisi della metafase nel midollo osseo di roditori o test del micronucleo in roditori).

Se l'esito di almeno uno dei test di mutazione genica in vitro è positivo, occorre effettuare un test in vivo della sintesi non programmata del DNA o un saggio delle macchie (spot test) sul topo.

5.5. *Genotossicità — Studi in vivo su cellule germinali*

Scopo e condizioni della prova

Cfr. punto 5.4. della parte A.

Circostanze di necessità delle prove

Se l'esito di uno studio in vivo su cellule somatiche è positivo, può essere giustificata una sperimentazione in vivo per determinare gli effetti sulle cellule germinali. La necessità o meno di questi test sarà valutata caso per caso, tenendo conto di altri elementi pertinenti, tra cui l'uso e l'esposizione prevista. Sono necessari test opportuni per esaminare l'interazione con il DNA (ad esempio, il saggio dei letali dominanti) e le potenzialità di effetti ereditari con un'eventuale valutazione quantitativa. Data la loro complessità, si ammette che gli studi quantitativi siano necessari solo se fortemente motivati.

(FINE DELLA FASE II)

5.6. *Sintesi della tossicità, della patogenicità e dell'infettività nei mammiferi e valutazione complessiva*

Dev'essere presentata una sintesi di tutti i dati di cui dal punto 5.1 al punto 5.5, con una loro valutazione particolareggiata e critica, tenendo conto dei pertinenti criteri e orientamenti valutativi e decisionali, con particolare riferimento ai rischi, reali o eventuali, per l'uomo e per gli animali, unitamente ad indicazioni sulla portata, la qualità e l'affidabilità della base di dati.

Si deve spiegare se l'esposizione dell'uomo o degli animali abbia possibili implicazioni dal punto di vista della vaccinazione o del monitoraggio sierologico.

6. **Residui in o su prodotti trattati, alimenti per l'uomo e per gli animali**

*Introduzione*

i) Le informazioni fornite, congiuntamente a quelle relative ad uno o più preparati contenenti il microrganismo, devono essere sufficienti per consentire una valutazione dei rischi per l'uomo e/o per gli animali, derivanti dall'esposizione al microrganismo e ai relativi residui e metaboliti (tossine) presenti nei o sui vegetali o prodotti vegetali.

ii) Inoltre, le informazioni fornite devono essere sufficienti per:

- poter decidere se il microrganismo possa essere approvato o meno,
- specificare le opportune condizioni o limitazioni a cui subordinare l'eventuale approvazione,
- se del caso, fissare quantità massime di residui e intervalli pre-raccolta per proteggere i consumatori nonché periodi di attesa per proteggere gli addetti alla manipolazione delle colture e dei prodotti trattati.

iii) Ai fini della valutazione dei rischi derivanti dai residui, non sono necessari dati sperimentali sui livelli di esposizione ai residui se può essere dimostrato che il microrganismo e i relativi metaboliti non sono pericolosi per l'uomo in concentrazioni come quelle risultanti da un uso autorizzato. Tale dimostrazione può essere suffragata dalla letteratura, dalla sperimentazione empirica o dalle informazioni di cui alle sezioni da 1 a 3 e alla sezione 5.

6.1. *Persistenza e probabilità di moltiplicazione nelle colture, nei mangimi e nei prodotti alimentari*

Dev'essere presentata una stima documentata della persistenza/competitività del microrganismo e dei metaboliti secondari rilevanti (specialmente tossine) nei o sui vegetali nelle condizioni ambientali che ricorrono durante e dopo l'uso, tenendo conto in particolare delle informazioni di cui alla sezione 2.

Inoltre, nella domanda si dovrà dichiarare in che misura e per quale motivo si ritiene che il microrganismo possa/non possa proliferare nei o sui vegetali o prodotti vegetali, o durante il processo di trasformazione delle materie prime.

6.2. *Altre informazioni*

I consumatori possono rimanere esposti per un certo tempo al microrganismo in seguito al consumo di prodotti alimentari trattati. I potenziali effetti sul consumatore devono quindi essere desunti da studi cronici o semi-cronici, in modo da poter fissare una soglia tossicologica (ad esempio la DGA) ai fini della gestione del rischio.

#### 6.2.1. Residui non vitali

Un microrganismo non vitale è un microrganismo non più atto a riprodursi o a trasferire materiale genetico.

Se è stata constatata la persistenza di quantità significative di microrganismi o di metaboliti da essi prodotti, in particolare tossine, conformemente a quanto indicato nei punti 2.4 e 2.5, sarà necessario disporre di dati sperimentali completi sui residui, come previsto nella sezione 6 della parte A del presente allegato, qualora le concentrazioni di microrganismi e/o delle relative tossine nei o sui prodotti alimentari o mangimi trattati siano prevedibilmente superiori a quelle che ricorrono in natura o in un diverso stato fenotipico.

In conformità con il regolamento (CE) n. 1107/2009, la conclusione in merito alla differenza tra concentrazioni naturali e un'elevata concentrazione dovuta al trattamento a base di microrganismi deve essere fondata su dati sperimentali e non su estrapolazioni o calcoli ricavati da modelli.

Prima di eseguire tali studi, il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo di studio da eseguire.

#### 6.2.2. Residui vitali

Se le informazioni di cui al punto 6.1. sembrano rivelare la persistenza di quantità significative di microrganismi nei o sui prodotti trattati, si dovranno analizzare i possibili effetti sull'uomo e/o sugli animali, tranne nel caso in cui le informazioni di cui alla sezione 5 dimostrino che il microrganismo e i suoi metaboliti o i prodotti di degradazione non sono pericolosi per l'uomo in concentrazioni e in forme come quelle risultanti da un uso autorizzato.

In conformità con il regolamento (CE) n. 1107/2009, la conclusione in merito alla differenza tra concentrazioni naturali e un'elevata concentrazione dovuta al trattamento con il microrganismo deve essere fondata su dati sperimentali e non su estrapolazioni o calcoli ricavati da modelli.

La persistenza di residui vitali richiede particolare attenzione se dai paragrafi 2.3, 2.5 o dalla sezione 5 è emersa un'infettività o una patogenicità nei mammiferi, o se qualsiasi altro elemento induce a sospettare un rischio per i consumatori o per i lavoratori. In questo caso, le autorità competenti possono esigere che vengano condotti studi analoghi a quelli descritti nella parte A.

Prima di eseguire tali studi, il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo di studio da eseguire.

#### 6.3. Sintesi e valutazione del comportamento dei residui sulla base dei dati di cui ai punti 6.1 e 6.2

### 7. Destino e comportamento nell'ambiente

#### Introduzione

- i) Per poter valutare il destino e il comportamento nell'ambiente, occorrono informazioni sull'origine, sulle proprietà e sulla sopravvivenza del microrganismo e dei suoi metaboliti residui, nonché sull'uso che se ne intende fare.

Di norma si richiedono dati sperimentali, tranne se si può dimostrare che i dati disponibili sono di per sé sufficienti per realizzare la valutazione. Tale dimostrazione può essere suffragata dalla letteratura, dalla sperimentazione empirica o dalle informazioni di cui alle sezioni 1-6. Particolare interesse riveste la funzione del microrganismo nei processi ecologici.

- ii) Le informazioni fornite, congiuntamente a quelle relative ad uno o più preparati contenenti il microrganismo e ad altri dati pertinenti, devono essere sufficienti per consentire una valutazione del destino e del comportamento del microrganismo e delle sue tracce residue e tossine, ove siano rilevanti per la salute umana e/o per l'ambiente.

- iii) In particolare, le informazioni fornite devono essere sufficienti per:

- decidere se il microrganismo possa essere approvato o meno,
- specificare le opportune condizioni o limitazioni a cui subordinare l'eventuale approvazione,

- specificare i pittogrammi (una volta introdotti), le avvertenze, le indicazioni di pericolo e i consigli di prudenza ai fini della protezione dell'ambiente da apporre sull'imballaggio (contenitori),
  - prevedere la distribuzione, il destino e il comportamento del microrganismo e dei suoi metaboliti nell'ambiente e i relativi tempi,
  - individuare le misure necessarie per ridurre il più possibile la contaminazione dell'ambiente e l'impatto sulle specie non bersaglio.
- iv) I metaboliti rilevanti (cioè che implicano un rischio per la salute umana e/o per l'ambiente) prodotti dall'organismo esaminato in determinate condizioni ambientali devono essere caratterizzati. Se il microrganismo contiene o produce metaboliti rilevanti, potranno essere necessari i dati indicati nella sezione 7, parte A, del presente allegato a condizione che si verifichino tutte le circostanze seguenti:
- il metabolita rilevante è stabile all'esterno del microrganismo (cfr. punto 2.8),
  - l'eventuale effetto tossico del metabolita rilevante è indipendente dalla presenza del microrganismo,
  - si presume che il metabolita rilevante sia presente nell'ambiente in concentrazioni notevolmente superiori a quelle esistenti in natura.
- v) Devono essere prese in considerazione le informazioni disponibili sui rapporti con i ceppi selvatici esistenti in natura.
- vi) Prima di eseguire gli studi di seguito descritti, il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa la necessità di eseguirli e, secondariamente, circa il tipo di studio da eseguire. Si prenderanno in considerazione anche le informazioni risultanti dalle altre sezioni.

#### 7.1. *Persistenza e moltiplicazione*

Se del caso, si forniranno opportune informazioni sulla persistenza e la moltiplicazione del microrganismo in tutti i comparti ambientali, salvo nel caso in cui si possa dimostrare l'improbabilità che un particolare comparto ambientale sia esposto al microrganismo. Particolare attenzione sarà rivolta:

- alla competitività nelle condizioni ambientali prevalenti durante e dopo l'uso,
- alla dinamica della popolazione in condizioni climatiche estreme, quali si possono verificare a livello regionale o stagionale (estati torride, inverni rigidi, piogge intense), nonché alle pratiche agricole applicate dopo l'uso.

Si indicheranno le quantità stimate del microrganismo durante un lasso di tempo successivo all'uso del prodotto nelle condizioni d'impiego raccomandate.

##### 7.1.1. *Suolo*

Si registreranno i dati sull'attività e sulla dinamica della popolazione in diversi campioni di suolo, coltivato e non, rappresentativi dei suoli tipici delle vari regioni UE in cui il prodotto è utilizzato o se ne prevede l'uso. Per la scelta del suolo, la raccolta e la manipolazione dei campioni, ci si atterrà alle indicazioni che figurano nell'introduzione del punto 7.1. della parte A. Se l'organismo in esame va utilizzato in associazione con altri materiali (ad esempio lana di roccia), questi vanno inclusi nello spettro analitico.

##### 7.1.2. *Acqua*

È necessario registrare i dati sull'attività e sulla dinamica della popolazione in sistemi idrici e di sedimentazione naturale, alla luce e al buio.

##### 7.1.3. *Aria*

In caso di rischio sospetto per gli operatori, i lavoratori o gli astanti, potrebbe rendersi necessario raccogliere informazioni sulle concentrazioni nell'aria.

## 7.2. Mobilità

Deve essere valutata la possibilità di diffusione del microrganismo e dei suoi prodotti di degradazione nei vari comparti ambientali, salvo se si può dimostrare l'improbabilità che un particolare comparto ambientale sia esposto al microrganismo. In questo contesto, rivestono particolare interesse l'uso prescritto (pieno campo o serra, applicazione al suolo o sulle colture), le fasi del ciclo vitale, la presenza di vettori, la persistenza e la capacità dell'organismo di colonizzare habitat adiacenti.

La diffusione, la persistenza e le probabili distanze di trasporto richiedono particolare attenzione qualora siano emerse tossicità, infettività o patogenicità, oppure qualsiasi elemento induca a sospettare un rischio per l'uomo, gli animali o l'ambiente. In questo caso, le autorità competenti possono esigere che vengano condotti studi analoghi a quelli descritti nella parte A. Prima di eseguire tali studi, il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo di studio da eseguire.

## 8. Effetti sugli organismi non bersaglio

### Introduzione

i) Le informazioni sull'identità, le proprietà biologiche e altre informazioni, che figurano nelle sezioni da 1 a 3 e 7, costituiscono la base di valutazione degli effetti sulle specie non bersaglio. Nella sezione 7 si possono trovare altre informazioni utili sul destino e sul comportamento nell'ambiente e nella sezione 6 sul tenore di residui nei vegetali; questi dati, insieme a quelli concernenti la natura del preparato e le modalità di impiego, definiscono le caratteristiche e la portata dell'esposizione potenziale. I dati di cui alla sezione 5 forniscono informazioni essenziali quanto agli effetti sui mammiferi e ai relativi meccanismi.

Di norma si richiedono dati sperimentali, tranne se si può dimostrare che i dati disponibili sono di per sé sufficienti per valutare gli effetti sugli organismi non bersaglio.

ii) La scelta degli organismi non bersaglio per l'esame degli effetti ambientali si deve basare sull'identità del microrganismo (compresa la specificità dell'ospite, la modalità d'azione e l'ecologia dell'organismo). Tali conoscenze dovrebbero consentire di scegliere gli organismi idonei da esaminare, ad esempio organismi strettamente affini all'organismo bersaglio.

iii) Le informazioni fornite, insieme a quelle precisate per uno o più preparati contenenti il microrganismo, devono essere sufficienti per consentire una valutazione dell'impatto sulle specie non bersaglio (flora e fauna) che potrebbero essere soggette a rischi da esposizione al microrganismo, se di rilevanza ambientale. L'impatto può risultare da un'esposizione singola, prolungata o ripetuta e può essere reversibile o irreversibile.

iv) Le informazioni fornite relative al microrganismo, insieme con altre informazioni pertinenti e con quelle fornite a riguardo dei preparati che la contengono, devono essere sufficienti per:

- decidere se il microrganismo possa essere approvato,
- specificare le opportune condizioni o limitazioni a cui subordinare l'eventuale approvazione,
- permettere una valutazione dei rischi a breve e lungo termine per le specie non bersaglio — popolazioni, comunità e processi — secondo i casi,
- classificare il microrganismo secondo il danno biologico,
- specificare le precauzioni occorrenti per la protezione delle specie non bersaglio, e
- specificare i pittogrammi (una volta introdotti), le avvertenze, le indicazioni di pericolo e i consigli di prudenza ai fini della protezione dell'ambiente da apporre sull'imballaggio (contenitori).

v) È necessario che tutti gli effetti potenzialmente dannosi scoperti durante le regolari indagini sugli effetti ambientali siano riportati nella relazione e che, se richiesto dalle autorità competenti, vengano intrapresi e documentati studi supplementari che si rendessero necessari allo scopo di studiare i probabili meccanismi implicati e di valutare l'importanza di questi effetti. La relazione deve riportare tutti i dati e tutte le informazioni di ordine biologico disponibili e utili per la valutazione del profilo ecologico del microrganismo.

vi) In tutti gli studi deve essere indicata la dose media realizzata, espressa in cfu/kg di peso corporeo e in altre unità adeguate.

- vii) Può essere necessario effettuare studi separati per i metaboliti rilevanti (specialmente tossine), qualora questi prodotti possano rappresentare un rischio rilevante per organismi non bersaglio e i loro effetti non siano valutabili in base ai risultati relativi al microrganismo. Prima di eseguire tali studi, il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa la necessità di eseguirli e, secondariamente, circa il tipo di studio da eseguire. Si prenderanno in considerazione le informazioni risultanti dalle sezioni 5, 6 e 7.
- viii) Allo scopo di facilitare la valutazione della significatività dei risultati ottenuti, nelle varie prove specificate si dovrà utilizzare, se possibile, lo stesso ceppo di ciascuna specie pertinente (o specie della stessa origine registrata).
- ix) Non occorre eseguire le prove se si può dimostrare che l'organismo non bersaglio non sarà esposto al microrganismo. Se viene dimostrato che il microrganismo non ha effetti tossici e non è patogeno né infettivo per i vegetali o per i vertebrati, si dovrà esaminare soltanto la reazione ad opportuni organismi non bersaglio.
- 8.1. *Effetti sugli uccelli*  
Scopo delle prove  
Devono essere presentate informazioni sulla tossicità, sull'infettività e sulla patogenicità per gli uccelli.
- 8.2. *Effetti sugli organismi acquatici*  
Scopo delle prove  
Devono essere presentate informazioni sulla tossicità, sull'infettività e sulla patogenicità per gli organismi acquatici.
- 8.2.1. *Effetti sui pesci*  
Scopo delle prove  
Devono essere presentate informazioni sulla tossicità, sull'infettività e sulla patogenicità per i pesci.
- 8.2.2. *Effetti sugli invertebrati di acqua dolce*  
Scopo delle prove  
Devono essere presentate informazioni sulla tossicità, sull'infettività e sulla patogenicità per gli invertebrati di acqua dolce.
- 8.2.3. *Effetti sulla crescita delle alghe*  
Scopo delle prove  
Devono essere presentate informazioni sulla crescita delle alghe, sul tasso di accrescimento e sulla capacità di recupero.
- 8.2.4. *Effetti sui vegetali diversi dalle alghe*  
Scopo delle prove  
Devono essere presentate informazioni circa gli effetti sui vegetali diversi dalle alghe.
- 8.3. *Effetti sulle api*  
Scopo delle prove  
Devono essere presentate informazioni sulla tossicità, sull'infettività e sulla patogenicità per le api.
- 8.4. *Effetti su artropodi diversi dalle api*  
Scopo delle prove  
Devono essere presentate informazioni sulla tossicità, sull'infettività e sulla patogenicità per gli artropodi diversi dalle api. La scelta delle specie da esaminare sarà determinata dall'uso potenziale del prodotto fitosanitario (ad esempio, applicazione sulle foglie o al suolo). Particolare attenzione dev'essere rivolta agli organismi utilizzati per la lotta biologica e agli organismi che svolgono un ruolo importante nella difesa integrata contro i parassiti.
- 8.5. *Effetti sui lombrichi*  
Scopo delle prove  
Devono essere presentate informazioni sulla tossicità, sull'infettività e sulla patogenicità per i lombrichi.

8.6. *Effetti su microrganismi non bersaglio del terreno*

Dev'essere documentato l'impatto su microrganismi non bersaglio rilevanti e sui loro predatori (ad esempio protozoi per inoculazione batterica). Per decidere se siano necessari studi supplementari, bisognerà ricorrere al parere di esperti. Ai fini di tale decisione, entreranno in considerazione le informazioni disponibili a titolo della presente e di altre sezioni, in particolare i dati sulla specificità del microrganismo e sull'esposizione prevista. Utili informazioni potranno essere ricavate anche dalle osservazioni condotte nell'ambito delle prove di efficacia. Particolare attenzione sarà rivolta agli organismi utilizzati nella difesa integrata delle colture.

8.7. *Studi supplementari*

Ulteriori studi potrebbero vertere sugli effetti acuti esaminati su altre specie o in altri processi (ad esempio i sistemi fognari), oppure su fasi superiori come quella cronica, subletale o riproduttiva in organismi non bersaglio selezionati.

Prima di eseguire tali studi, il richiedente deve ottenere l'accordo delle autorità competenti circa il tipo di studio da eseguire.

9. **Sintesi e valutazione dell'impatto ambientale**

Si dovrà eseguire una sintesi e una valutazione di tutti i dati relativi all'impatto sull'ambiente, secondo le direttive impartite dalle autorità competenti degli Stati membri per quanto riguarda il formato di tali sintesi e valutazioni. Esse devono contenere una valutazione critica e particolareggiata dei suddetti dati sulla base dei pertinenti criteri ed orientamenti valutativi e decisionali, con particolare riguardo ai possibili rischi per l'ambiente e per le specie non bersaglio; deve essere inoltre inclusa una valutazione dell'estensione, della qualità e dell'affidabilità di questi dati disponibili. Occorre riservare particolare rilievo ai seguenti elementi:

- distribuzione e destino nell'ambiente e relativi tempi,
  - identificazione di specie e popolazioni non bersaglio a rischio e portata della loro esposizione potenziale,
  - definizione delle precauzioni necessarie per evitare o ridurre al minimo la contaminazione dell'ambiente e per proteggere le specie non bersaglio.
-