

Agrofarmaci a base di microrganismi: aspetti tossicologici rilevanti per la valutazione della salute umana

Sara Lamperti
Corteva Agriscience

Introduzione

Negli ultimi anni l'agricoltura, in particolare quella europea, ha assistito ad un notevole aumento dell'uso di fitofarmaci a base microbica.

Per sostenere la transizione europea verso sistemi alimentari sostenibili e supportare la strategia "Farm to Fork - dal produttore al consumatore", ma nel contempo garantire un elevato livello di protezione della salute umana e animale e dell'ambiente, la Commissione Europea ha adottato nuovi regolamenti in ambito di fitofarmaci biologici.

In particolare, per i prodotti fitosanitari a base di microrganismi nel 2022 sono stati approvati i regolamenti EU 2022/1439 e 2022/1440 che rispettivamente specificano i requisiti relativi ai microrganismi come sostanze attive e come prodotti formulati.

Inoltre, nel corso del 2023, la Commissione Europea ha pubblicato due comunicazioni

elencanti i metodi di prova e i documenti di orientamento pertinenti ai due regolamenti 1439 e 1440 e anche delle "Note esplicative" che forniscono ulteriori dettagli sui requisiti richiesti

Le nuove norme riflettono i più recenti sviluppi scientifici e tecnici e si basano sulle proprietà biologiche specifiche dei microrganismi. Poiché i microrganismi sono organismi viventi, è necessario un approccio che tenga conto anche delle nuove conoscenze scientifiche emerse sulla loro biologia.

Valutazione degli effetti sulla salute umana

I punti fondamentali per la protezione della salute umana e animale sono:

1. Valutazione della patogenicità e infettività del microrganismo;
2. Valutazione del rischio di resistenza antimicrobica;

3. Valutazione della possibile produzione di metaboliti secondari pericolosi.

Tutti gli studi usati per la valutazione di effetti potenziali sulla salute umana dovrebbero essere condotti in accordo alle BPL (Buone Pratiche di Laboratorio), unica eccezione è la generazione e l'analisi della sequenza genica (WGS) per attività antimicrobica e la produzione dei metaboliti secondari.

1. La **valutazione della infettività** (capacità del microrganismo di entrare e di replicarsi nell'ospite) e **della patogenicità** (capacità del microrganismo di causare un danno all'ospite dopo infezione) deve avvenire attraverso studi specifici su ratto a seguito di una singola sommi-

nistrazione (in accordo alle linee guida USEPA OPPTS della serie 885.) per via orale, intratracheale e intravenosa/intraperitoneale/sottocutanea. In questi studi viene valutata la tossicità e la replicazione del microrganismo all'interno dell'animale e la eventuale *clearance* dello stesso nei diversi organi e nel sangue fino a 21 gg dopo l'esposizione.

Esiste la possibilità, in base alla normativa, di evitare l'esecuzione dei test *in vivo* nel caso in cui sia possibile dimostrare, tramite un approccio basato sulla forza probante dei dati (*Weight of Evidence*, WoE), che per il microrganismo in analisi non sono previsti effetti di questo tipo.

**cosa considerare
per WoE?**

- Ecologia e condizioni di crescita del microrganismo
- Meccanismo azione
- Presenza naturale nell'ambiente
- Storia di utilizzo sicuro (non limitata ai prodotti per agricoltura)
- Informazioni dalla letteratura o lista QPS*
- Valutazione della sequenza genica (WGS)

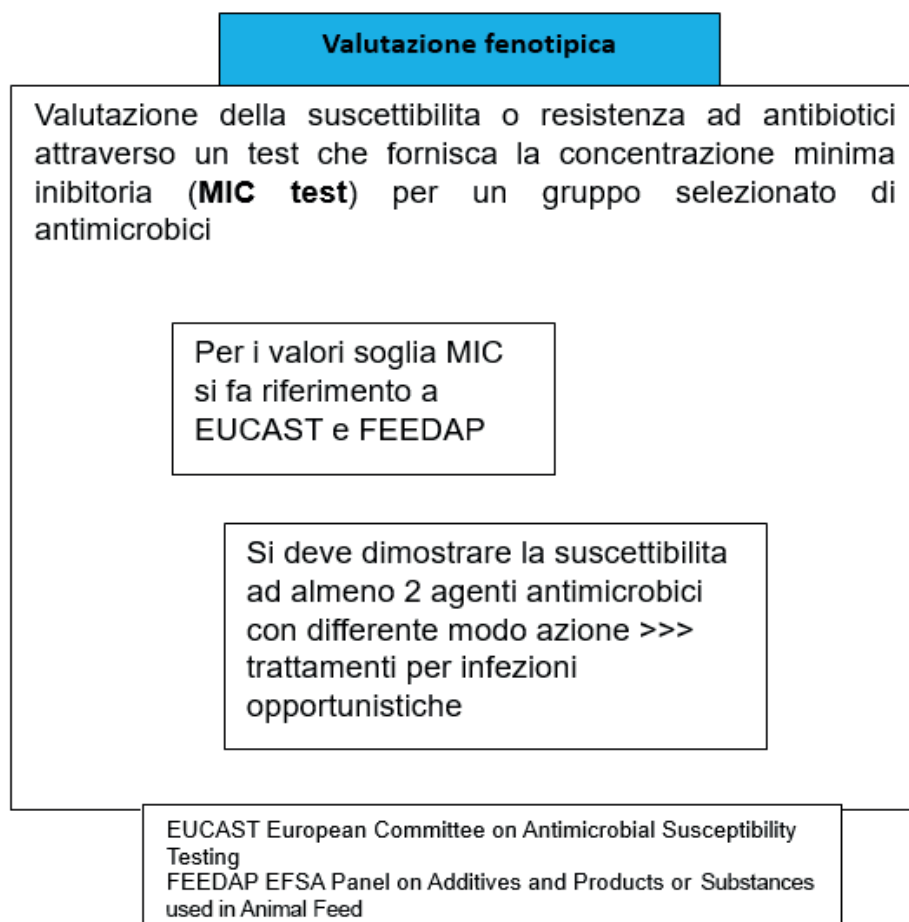
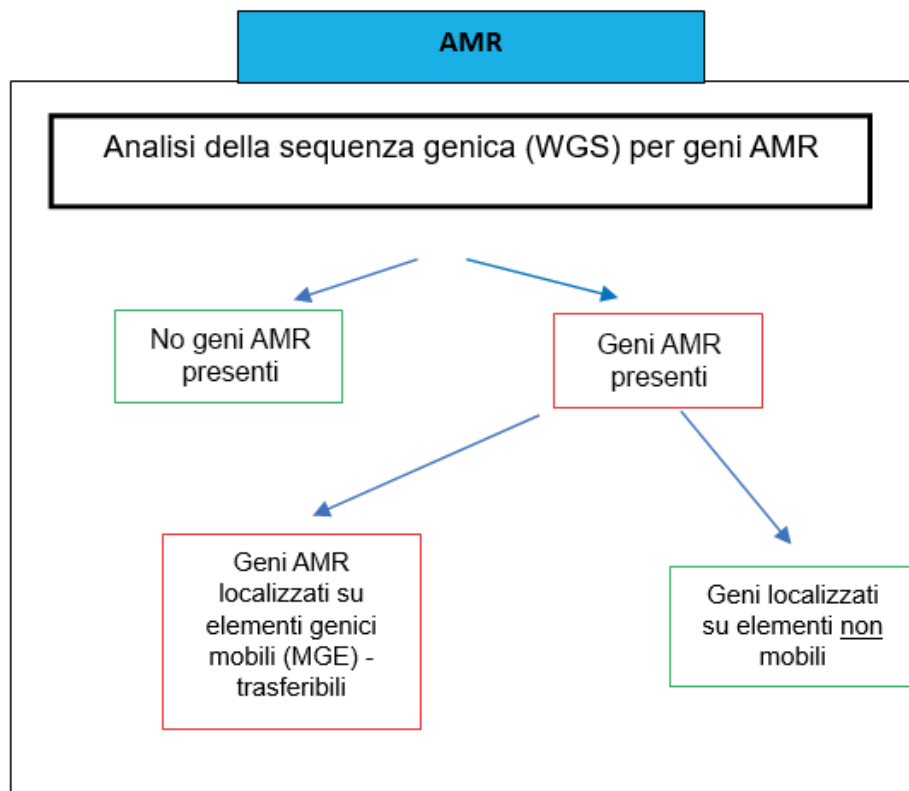
* EFSA presunzione qualificata di sicurezza

2. La **valutazione della resistenza antimicrobica** del microrganismo si basa su due punti fondamentali :

- valutazione della sequenza genica (WGS) e della presenza di geni di resistenza antimicrobica (AMR) ri-

levanti per uso umano o animale e la potenzialità di trasferibilità degli stessi – solo per batteri;

- valutazione fenotipica di suscettibilità ad antibiotici.



3. La **valutazione** della possibile produzione di **metaboliti secondari pericolosi** si basa sulla linea guida della Commissione Europea **SANCO/2020/12258**.

Questa linea guida determina come ef-

fettuare la valutazione per escludere o identificare metaboliti di rilevanza (per tossicità e/o azione antimicrobica) e, nel caso, come effettuare poi la valutazione del rischio.

4 fasi della valutazione:

- Stage 1: determinare il tipo di valutazione per i metaboliti secondari (in base al meccanismo d'azione) - se il metabolita presente nel prodotto fitosanitario è coinvolto nel meccanismo d'azione;
- Stage 2: creare la lista dei metaboliti secondari di potenziale rilevanza in base alle informazioni disponibili rilevanti;
- Stage 3: determinare la lista dei metaboliti di reale rilevanza;
- Stage 4: valutare rischio per i metaboliti di rilevanza.

Per la valutazione dei metaboliti secondari è raccomandato l'utilizzo della *Appendix I* estratta da *Explanatory notes for micro-or-*

ganism riportata nella immagine sottostante.

	Stage 1		Stage 2					Stage 3			Stage 4	
Metabolite identifier ¹⁾	Active substance (Y/N)	Secondary contributor to MoA (Y/N/?)	Verification of MoPC-status				Outcome chemical analysis ⁴⁾	Relevant exposed group ⁵⁾	MoC (Y/N)	Ref. values (TOX) and endpoints (ECOTOX)	Exposure level	Unacceptable risk (Y/N) ⁶⁾
			Toxic / antimicrobial effect observed, test species, and strain ²⁾	Potential relevance for MPC ³⁾	WGS-evidenced (Y/N)	MoPC (Y/N/?)						
Name, CAS, and/or IUPAC	Y/N	Y/N/?	<u>Study 1:</u> Effect / test species / strain <u>Study 2, etc...</u>	Metabolite / Effect	Y/N	Y/N/?	<u>MPCA-AM:</u> Y/N or max. <u>MPCP:</u> Y/N or max. <u>Induced:</u> Y/N	TOX; TOX.. / ECOTOX; ECOTOX.. Y/N	Y/N	TOX; TOX.. / ECOTOX; ECOTOX.. / ECOTOX;		

Ruolo fondamentale nella definizione dei metaboliti di reale *concern* e l'utilizzo della sequenza genica del microorganismo (**WGS-whole genome sequence**).

WGS è molto efficace per la valutazione del rischio (microorganismo e metaboliti secondari), ma anche naturalmente per identificazione tassonomica del microorganismo stesso.

Conclusioni

Per valutare la sicurezza dei prodotti fitosanitari a base di microrganismi è importante:

- Valutare il singolo microorganismo per le sue caratteristiche specifiche di crescita e sviluppo e suo modo d'azione;

- Usare dove possibile dati da WGS e informazioni su microorganismo per ridurre al minimo utilizzo di animali;
- Nel caso di studi di patogenicità/infettività limitare il numero andando a prioritizzare la via di somministrazione in base alla reale esposizione umana;
- Lavorare per un'armonizzazione globale della strategia valutativa in modo da ridurre al minimo i test non necessari *in vivo* e permettere una più accurata e mirata valutazione del rischio.

Bibliografia

1. *REGOLAMENTO (UE) 2022/1439 DELLA COMMISSIONE del 31 agosto 2022 che modifica il regolamento (UE) n. 283/2013 per quanto riguarda le informazioni da trasmettere per le sostanze attive e i requisiti specifici relativi ai dati*

applicabili ai microrganismi.

2. *REGOLAMENTO (UE) 2022/1440 DELLA COMMISSIONE del 31 agosto 2022 che modifica il regolamento (UE) n. 284/2013 per quanto riguarda le informazioni da trasmettere per i prodotti fitosanitari e i requisiti specifici relativi ai dati applicabili ai prodotti fitosanitari contenenti microrganismi.*
3. *Comunicazione della Commissione riguardante la parte B dell'allegato del regolamento (UE) n. 283/2013 della Commissione, che stabilisce i requisiti relativi ai dati applicabili alle sostanze attive, conformemente al regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari 2023/C 202/03.*
4. *Comunicazione della Commissione riguardante la parte B dell'allegato del regolamento (UE) n. 284/2013 della Commissione, dell'1 marzo 2013, che stabilisce i requisiti relativi ai dati applicabili ai prodotti fitosanitari, conformemente al regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari 2023/C 202/02.*
5. *Explanatory notes for the implementation of the data requirements on micro-organisms and plant protection products containing them in the framework of Reg. (EC) No 1107/2009. European Commission PAFF-PPL-October 2023-Doc.A.07.01 12 October 2023.*
6. *Series 885 - Microbial Pesticide Test Guidelines (USEPA) <https://www.epa.gov/test-guidelines-pesticides-and-toxic-substances/series-885-microbial-pesticide-test-guidelines>*
7. *List of qualified presumption of safety (QPS) recommended microorganisms intentionally added to food or feed as notified to EFSA; doi:10.2903/j.efsa.2023.7747.*
8. *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) <https://www.eucast.org/>*
9. *EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEED-AP).*
10. *SANCO/2020/12258 rev 1- 21 marzo 2024 GUIDANCE ON THE RISK ASSESSMENT OF METABOLITES PRODUCED BY MICROORGANISMS USED AS PLANT PROTECTION ACTIVE SUBSTANCES IN ACCORDANCE WITH ARTICLE 77 OF REGULATION (EC) No 1107/2009.*