

SUPSI

Mendrisio, 14.02.2025

Domanda di licenza (procedura semplificata) per il rilascio sperimentale di invertebrati alieni (artropodi, anellidi, nematodi, platelminti): Valutazione dell'efficacia della tecnica del maschio sterile contro *Aedes albopictus* (zanzara tigre asiatica) in diversi ambienti urbani come misura di controllo integrata, nell'ambito del Programma congiunto TDR WHO/IAEA.

Prefazione

Ai sensi dell'Articolo 22 dell'Ordinanza sulla Manipolazione degli Organismi nell'Ambiente (Ordinanza sul Rilascio, RO), ci prendiamo la libertà di richiedere una **procedura semplificata** per ottenere un permesso per il rilascio di maschi sterili di zanzara tigre, poiché un tale rilascio è già stato approvato con la licenza B21002 (BAFU-217.23-64633/7) e la sua successiva estensione per il 2024, ovvero "un rilascio sperimentale con pericoli e danni potenziali comparabili è stato autorizzato in Svizzera, in particolare se riguarda gli stessi organismi".

Di seguito riassumiamo le somiglianze e le differenze tra gli esperimenti.

I maschi sterili per i quali si richiede il permesso di rilascio saranno in tutti gli aspetti simili a quelli utilizzati nell'esperimento di Morcote (2022-2024). Nello specifico, si tratterà di zanzare tigre provenienti dalla colonia stabilita con uova del Canton Ticino, prodotte e irradiate dalla stessa struttura italiana, il Centro Agricoltura e Ambiente, seguendo gli stessi protocolli di produzione e attività di controllo qualità, qui allegati.

I test di qualità e il protocollo di rilascio dei maschi sterili rimarranno invariati. In particolare, è previsto il rilascio di 3'000 maschi sterili per ettaro, due volte a settimana, da maggio a settembre. Anche i metodi di raccolta dati e i periodi di monitoraggio rimarranno gli stessi, utilizzando ovitrappole e trappole per adulti. Tuttavia, non verranno più condotte attività di rilascio-marcatura-ricattura, poiché i dati raccolti con questa tecnica – come distanza percorsa e sopravvivenza – sono coerenti con i risultati di altri esperimenti europei. Inoltre, queste metriche possono essere dedotte dai dati raccolti tramite ovitrappole e trappole per adulti (ad esempio, conteggio dei maschi e distanza dell'effetto).

Un aspetto nuovo e importante dell'esperimento sarà la raccolta di dati sull'età delle femmine. In particolare, si valuterà se il rilascio di maschi sterili impatti non solo il numero di femmine, ma anche la loro età, riducendola. Questo è cruciale per valutare il potenziale impatto sul rischio di trasmissione di patogeni. Dati preliminari suggeriscono un possibile effetto, ma i risultati non sono ancora completi.

Parallelamente all'esperimento, verrà condotta un'indagine approfondita per valutare l'accettazione pubblica e la percezione dell'efficacia della tecnica. Sebbene le interviste condotte come parte del follow-up dell'esperimento di Morcote e numerosi resoconti mediatici suggeriscano che la tecnica sia generalmente ben accettata dal pubblico, intendiamo esplorare questa percezione in modo più dettagliato.

A differenza dell'esperimento precedente, ora prevediamo di operare in aree non territorialmente isolate. Morcote era stata scelta perché confinava con un lago e una montagna, senza una chiara continuità urbana con i comuni vicini. Essenzialmente, era stata selezionata come un sistema "isolato" per valutare se la tecnica potesse avere un effetto sul campo. Tale effetto è stato osservato, come riportato nel rapporto preliminare, ma variava in base alle diverse strutture urbane all'interno del comune (ad esempio, case unifamiliari con giardini, centro urbano, aree di confine con comuni non trattati).

Per questo nuovo esperimento, riteniamo che, per fornire risposte affidabili sull'efficacia della tecnica e valutarne l'idoneità per aree specifiche, sia necessario comprendere come il rilascio di maschi sterili agisca in diversi contesti urbani (urbano, periurbano, campeggi, strutture alberghiere). Pertanto, il nuovo esperimento includerà rilasci in 21 aree con caratteristiche urbane diverse e non isolate da altre zone urbane. Ogni area di rilascio coprirà 12 ettari, rispetto ai 45 ettari utilizzati a

Morcote, con un'ulteriore area di controllo di 12 ettari che circonda ogni zona di rilascio. Tutti i comuni delle aree interessate hanno già concesso l'approvazione per i rilasci.

Verrà inoltre implementato un nuovo modello di analisi dei dati, sviluppato dall'esperienza di Morcote e adottato da altri progetti SIT. Le 21 aree non saranno trattate simultaneamente durante l'esperimento triennale, ma in gruppi di 7. Ogni area fungerà da proprio controllo e verrà confrontata con le altre, al fine di tenere conto di un possibile "effetto anno".

In sostanza, miriamo a valutare l'efficacia della SIT e a determinarne l'impatto a diverse distanze all'interno di differenti strutture urbane.

Riteniamo che la raccolta di questi dati sia essenziale per valutare se la SIT sia una soluzione praticabile in Svizzera. Il nostro obiettivo è fornire ai comuni e ai cantoni indicazioni informate sulla convenienza del rilascio di maschi sterili di zanzara tigre in una determinata area, sia per ridurre il fastidio che per mitigare il rischio di trasmissione di malattie. Una vera valutazione costi-benefici potrà essere condotta una volta che verrà istituita una biofabbrica in grado di produrre per il territorio svizzero.

I rilasci sono previsti in modo sequenziale per gli anni 2025-2027, ma il loro inizio è legato all'approvazione di un progetto sottomesso al fondo nazionale per la ricerca. Qualora, questo però non venisse approvato, dovremmo andare a cercare altrove fondi per effettuare l'esperimento. Vi chiediamo quindi già da adesso la possibilità di estendere il progetto di ulteriori 2 anni (2028 e 2029), sempre secondo le modalità descritte.

1. Informazioni generali

Aedes albopictus, conosciuta anche come zanzara tigre, è una specie alloctona invasiva che si è stabilita nella maggior parte del territorio del Canton Ticino da quasi 20 anni e che, negli ultimi anni, si è espansa in diverse altre regioni svizzere (Figura 1). In molte di queste aree, la specie è già ampiamente insediata, in particolare nelle zone urbane dei Cantoni di Basilea Città, Basilea Campagna, Ginevra, Vallese, nonché nella Mesolcina nel Canton Grigioni, ecc. (www.mosquitoes-switzerland.ch).

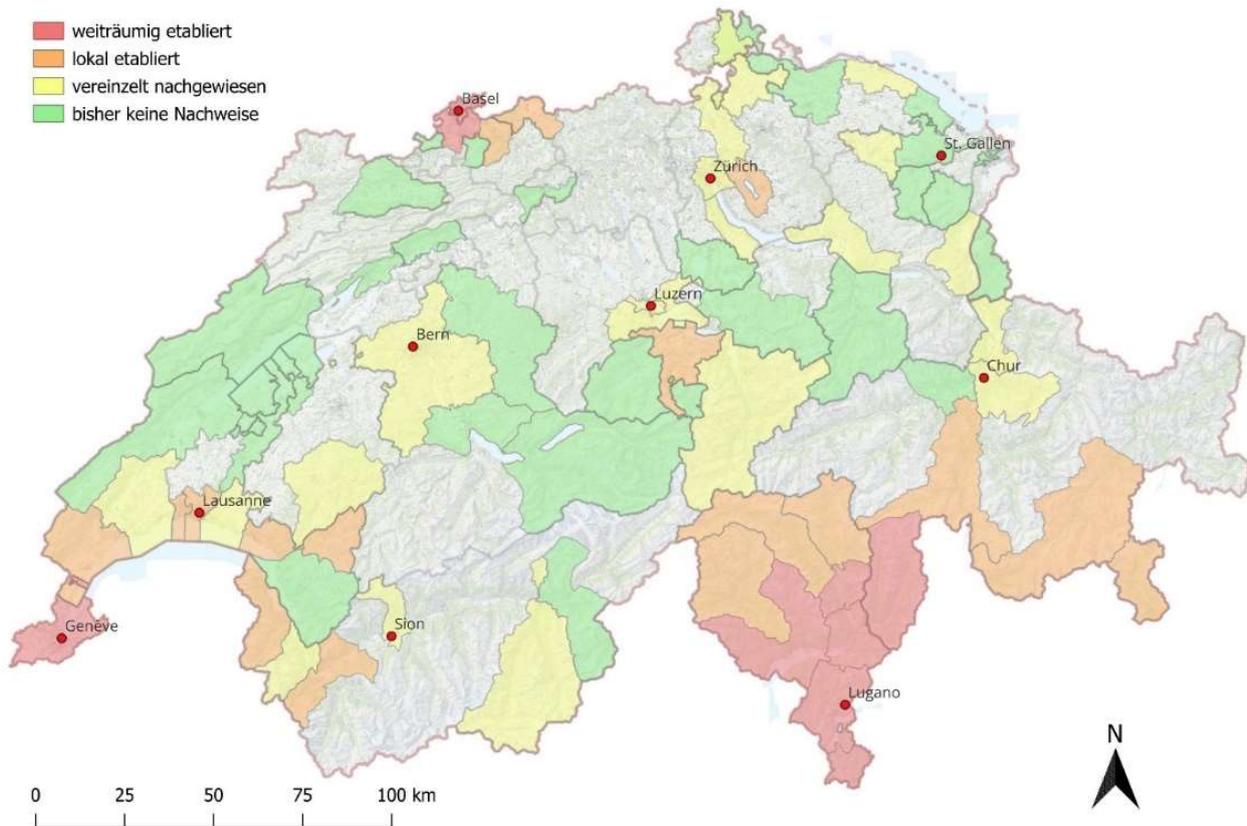


Figura 1. Distribuzione di *Aedes albopictus* in Svizzera nel 2024 (Swiss Mosquito Network)

Questa specie di zanzara è considerata una delle specie invasive più pericolose al mondo per la sua capacità di diffondersi e trasmettere malattie virali esotiche come dengue, chikungunya e Zika. A livello globale, la recrudescenza di focolai di malattie trasmesse da *Aedes* evidenzia le limitazioni dei programmi convenzionali di controllo dei vettori, che si basano principalmente sull'uso di insetticidi e sull'eliminazione dei siti di riproduzione larvale. Le sfide includono lo sviluppo di resistenza agli insetticidi, la presenza di siti di riproduzione criptici, infrastrutture insufficienti o scarso supporto governativo e costi elevati. La zanzara tigre rappresenta inoltre un enorme fastidio per i cittadini, che spesso reagiscono applicando biocidi in modo incontrollato, aumentando così i rischi per la salute e l'ambiente. È quindi urgente sviluppare strategie innovative, sostenibili ed economicamente vantaggiose per il controllo delle zanzare *Aedes*, in particolare *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, i due principali vettori di arbovirus responsabili di oltre il 99% della trasmissione di queste malattie nella popolazione umana.

Nel Canton Ticino, *Ae. albopictus* viene attualmente gestita con risultati soddisfacenti (www.ti.ch/zanzare; www.supsi.ch/go/zanzare) attraverso il controllo larvale e la partecipazione della comunità (Flacio et al. 2015; Ravasi et al. 2021). Finora, grazie anche a un piano d'azione elaborato in collaborazione con l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e coordinato dall'ufficio del medico cantonale, non si sono mai verificati casi di trasmissione locale delle malattie sopra menzionate. Tuttavia, le densità residue della popolazione di zanzare sono stimate essere abbastanza elevate da costituire un potenziale rischio di trasmissione di malattie esotiche (Ravasi et al. 2020). Inoltre, è difficile mantenere costante l'impegno della popolazione e individuare tutti i siti di riproduzione della zanzara tigre, poiché molti di essi sono criptici.

Valutazione dell'efficacia della tecnica del maschio sterile contro *Aedes albopictus* (zanzara tigre asiatica) in diversi ambienti urbani come misura di controllo integrato nell'ambito del programma Join TDR OMS/IAEA.

TDR (il Programma Speciale per la Ricerca e la Formazione sulle Malattie Tropicali, co-sponsorizzato da UNICEF, UNDP, la Banca Mondiale e l'OMS), insieme all'Agenzia Internazionale per l'Energia Atomica (IAEA), incoraggia fortemente l'applicazione della Tecnica dell'Insetto Sterile (Sterile Insect Technique, SIT) alle zanzare, poiché i biocidi tradizionali stanno perdendo efficacia a causa della resistenza, mentre la SIT è un sistema di controllo mirato, senza impatti noti sull'ambiente o sulla salute (Bouyer 2024). La SIT è una tecnica di controllo genetico ampiamente utilizzata negli ultimi 60 anni per prevenire, sopprimere o eradicare insetti nocivi di rilevanza agricola, sanitaria e veterinaria (Bouyer 2024). In questa tecnica, sono le stesse zanzare a cercare altre zanzare.

La SIT prevede l'allevamento massivo della specie bersaglio in strutture dedicate, la separazione dei maschi dalle femmine, la sterilizzazione dei maschi tramite radiazioni e il loro rilascio nell'ambiente. I maschi sterili non pungono e competono attivamente per l'accoppiamento con le femmine selvatiche vergini. Il rilascio continuo di un numero sufficiente di maschi sterili è in grado di ridurre il tasso di riproduzione della popolazione bersaglio sul campo. L'esposizione a radiazioni ionizzanti mutageniche è stata il metodo più utilizzato e sicuro per rendere sterili gli insetti, senza alcuna evidenza di resistenza anche nel lungo periodo. Secondo lo Standard Internazionale per le Misure Fitosanitarie n. 3 della Convenzione Internazionale per la Protezione delle Piante (FAO 2005), gli insetti sterili sono classificati come organismi benefici, poiché la SIT è tra i metodi di controllo degli insetti più ecologici mai sviluppati. Inoltre, secondo l'Allegato 1.3.a. dell'Ordinanza 814.911, i maschi radio-sterilizzati ottenuti mediante processo mutagenico non sono considerati organismi geneticamente modificati.

In Europa, la resistenza agli adulticidi si sta diffondendo rapidamente. In Svizzera, i biocidi adulticidi non vengono utilizzati regolarmente nelle attività di controllo, ma sono necessari in caso di misure straordinarie per contrastare un rischio di trasmissione di malattie. Tuttavia, se il pubblico non utilizza questi biocidi, sempre più cittadini installano dispositivi automatici che li applicano, aumentando così il rischio di insorgenza di resistenza. La tecnica SIT potrebbe essere uno strumento utile per ridurre questo rischio. Attualmente, la SIT è ancora costosa, ma le strutture di produzione su larga scala stanno migliorando costantemente e i costi si stanno riducendo ogni anno (Bouyer 2024).

La SUPSI ha già realizzato un progetto di questo tipo nel comune di Morcote (Canton Ticino) negli anni 2022-2024: Applicazione pilota della tecnica dell'insetto sterile contro *Aedes albopictus* (zanzara tigre asiatica) in Canton Ticino nell'ambito del Programma Join TDR OMS/IAEA (si veda il rapporto preliminare allegato). Lo scopo di questo progetto, realizzato su sollecitazione dell'OMS, è stato quello di verificare se l'applicazione di maschi sterili di zanzara tigre nell'ambito del sistema di lotta integrata già applicato in Canton Ticino possa portare a un'ulteriore diminuzione della presenza dell'insetto, e di valutare quale significato abbia sia in termini di fastidio per i cittadini che di rischio di trasmissione di malattie. Il test effettuato nel 2022 ha rappresentato un primo approccio preliminare alla tecnica. Ha permesso di comprendere tutti gli aspetti tecnici e scientifici fondamentali del metodo e ha confermato l'assenza di problemi logistici significativi. Nel 2023, abbiamo rilasciato maschi sterili su un'area target di 45 ettari (e in più di 70 punti di rilascio) e per tutta la stagione di attività della zanzara tigre (circa 150'000 maschi sterili rilasciati settimanalmente). Lo stesso esperimento è stato ripetuto nel 2024, poiché è stato dimostrato che il SIT ha una maggiore efficacia se i rilasci vengono effettuati per due anni di seguito. Si tratta del più grande progetto realizzato in Europa con l'integrazione del SIT nelle normali attività di controllo e sorveglianza dei vettori già esistenti e consolidate. A differenza degli altri progetti, non sono state condotte attività preliminari speciali ed eccezionali (ad esempio, porta a porta) per ridurre la densità di popolazione e il numero di siti riproduttivi, dando così risultati che producono indicazioni chiare per le parti interessate e i responsabili delle decisioni sul reale beneficio che questa tecnica potrebbe apportare al controllo dei vettori con la sua stabile integrazione nel piano di controllo nazionale svizzero per *Ae. albopictus*.

Inoltre, a differenza di altri, abbiamo raccolto dati anche sulle femmine adulte, un aspetto di fondamentale importanza per la valutazione dell'efficacia del SIT. I risultati sono notevoli, con una diminuzione sia delle uova (51-59%) che degli adulti (65-67%) nell'area target. Molto importante è il fatto che l'accettazione da parte del pubblico è stata più che soddisfacente. L'interesse è stato notevole, con oltre 50 apparizioni sui media (televisione, radio, giornali) in Svizzera, senza alcun commento negativo. Inoltre, alcuni comuni e diversi cantoni si aspettavano che la tecnica venisse adottata subito nel sistema di sorveglianza e controllo regolare. Infatti, i cantoni di Basilea Città e dei Grigioni hanno contribuito al finanziamento del progetto per tutti e 3 gli anni della sperimentazione. È importante notare che i test su piccola scala si sono rivelati un'ottima prova per identificare gli aspetti chiave che devono essere migliorati per estendere l'intervento ai programmi SIT operativi.

L'esperimento a Morcote non ha presentato problemi di sicurezza né per l'uomo né per l'ambiente: i maschi rilasciati sono sopravvissuti solo pochi giorni e il loro movimento attivo è rimasto nell'area dell'esperimento. L'esperimento si è rivelato efficace anche in aree solitamente critiche, come le case di campagna, normalmente mal gestite dai proprietari. Sebbene la zanzara tigre fosse ancora rilevabile con le trappole, i cittadini di Morcote ci hanno riferito di aver trascorso due estati tranquille "senza punture". Si sono invece riscontrati problemi di drastica riduzione della qualità dei maschi durante il trasporto con DHL o simili dall'Italia, dove vengono prodotti, e si è osservata anche una differenza di efficacia a seconda delle diverse strutture abitative presenti. Riteniamo che sia necessario valutare meglio questi aspetti prima di poter raccomandare o meno questa tecnica ai potenziali utilizzatori finali, qualora venisse accettata sul territorio svizzero come misura di controllo integrato della zanzara tigre.

Pertanto, il test su piccola scala effettuato a Morcote si è rivelato un'ottima prova per identificare gli aspetti chiave che devono essere migliorati per scalare l'intervento a programmi SIT operativi (Bouyer et al. 2020, Bouyer 2024). Attualmente, abbiamo richiesto una sovvenzione federale per la ricerca (SNSF) che ci permetterà di continuare gli studi che contribuiranno a concretizzare nel prossimo futuro l'implementazione del SIT come futura misura di controllo integrato contro *Aedes albopictus*, migliorando la nostra capacità di gestire questa specie senza danneggiare l'ambiente, la salute umana o animale.

Sono molti i temi toccati dalla nostra richiesta al FNS, come il miglioramento delle tecniche di produzione e trasporto, l'analisi automatizzata per il riconoscimento delle uova di zanzara invasiva e la valutazione della loro fertilità o meno, la valutazione dell'impatto sull'età delle femmine, un aspetto importante per valutare il reale impatto della tecnica sul rischio di trasmissione di malattie, la percezione pubblica della tecnica SIT. Il progetto presentato richiede comunque l'autorizzazione al rilascio, perché prevede di effettuare rilasci in diverse aree per i prossimi 3 anni, con l'obiettivo di testare e fornire metodi aggiornati per verificare l'efficacia del SIT, dalla progettazione degli esperimenti alla raccolta e analisi dei dati. Utilizzando il Ticino come campo di prova, valuteremo le prestazioni in campo dei maschi sterili di *Ae. albopictus* in aree antropizzate non isolate con caratteristiche diverse, che rispecchiano le esigenze che un utente può avere.

1.1 Nome e indirizzo del richiedente (azienda o istituzione)

Settore Ecologia dei Vettori, Istituto di Microbiologia (IM)
Scuola Universitaria Professionale della Svizzera Italiana (SUPSI)
Via Flora Ruchat-Roncati 15
CH-6850 Mendrisio

1.2 Nome, qualifiche ed esperienza dello scienziato responsabile

La Dr Eleonora Flacio è una biologa ecologa specializzata in entomologia medica, responsabile del Settore Ecologia dei Vettori presso IM/SUPSI e incaricata del sistema di sorveglianza della zanzara tigre nel Canton Ticino sin dalla sua istituzione nel 2000. Dal 2017 è responsabile del centro di coordinamento dello *Swiss Mosquito Network* (progetto sotto la supervisione dell'Ufficio federale dell'ambiente, FOEN).

È formatrice per la sorveglianza e il controllo delle zanzare invasive per la *European Mosquito Control Association* (EMCA), per l'*International Atomic Energy Agency* (IAEA), per la *European Society for Vector Ecology* e per *Aedes Invasive Mosquitoes COST*. È inoltre esperta nella determinazione delle zanzare invasive per il progetto europeo *Mosquito Alert* e per *Swiss Info Fauna*.

Per l'EMCA (<https://www.emca-online.eu/>), ha partecipato alla stesura delle linee guida europee per il controllo urbano delle zanzare, è stata membro del consiglio direttivo per diversi anni ed è attualmente presidente eletta.

Negli ultimi anni, ha partecipato come esperta ai workshop internazionali di TDR/WHO e IAEA sulla *Sterile Insect Technique* (SIT) e ha recentemente organizzato alla SUPSI, su incarico di TDR/WHO, un evento collaterale sulla SIT e la comunicazione, intitolato "*Communication on the Sterile Insect Technology (SIT) against Aedes vectors to control Aedes-borne diseases.*"

2 Identità e caratterizzazione degli organismi

2.1 Nomi scientifici e comuni

Aedes albopictus (*Stegomyia albopicta*) (Skuse, 1894), della famiglia dei Culicidi, noto anche come zanzara tigre asiatica o zanzara della foresta.

2.2 Dati tassonomici, inclusi sottospecie, ceppo o biotipo

Le zanzare tigre irradiate provengono da campioni di uova di zanzara tigre raccolti nel Canton Ticino negli anni 2019-2020 mediante ovitrappole nei comuni di Muzzano (coordinate: CH1903+ / LV95 2'714'083.0, 1'094'923.5) e Vacallo (coordinate: CH1903+ / LV95 2'723'799.4, 1'078'217.7).

L'irradiazione provoca mutazioni dominanti letali casuali e danni gonadici significativi che portano alla sterilità delle zanzare, senza alcuna manipolazione genetica.

2.3 Conferma dei dati tassonomici da parte di un'autorità scientifica riconosciuta e nome e indirizzo dell'istituzione in cui sono archiviati gli esemplari di riferimento

Le zanzare tigre sterili utilizzate possono essere identificate con qualsiasi chiave di determinazione delle zanzare europee (Becker et al., 2010).

Non si osservano modifiche morfologiche nella specie dopo l'irradiazione. Campioni locali selvatici di questi ceppi di zanzara sono conservati presso il Settore Ecologia dei Vettori dell'IM/SUPSI.

La Dr E. Flacio è un'esperta europea nella determinazione delle zanzare invasive.

Valutazione dell'efficacia della tecnica del maschio sterile contro *Aedes albopictus* (zanzara tigre asiatica) in diversi ambienti urbani come misura di controllo integrato nell'ambito del programma Join TDR OMS/IAEA.

2.4 Marcatori fenotipici e genetici e descrizione dei metodi per identificare inequivocabilmente gli organismi nell'ambiente

Si rimanda alla sezione 2.3 per i marcatori fenotipici.

Oltre alla sterilità indotta, le mutazioni casuali indotte nei maschi sterili non possono essere geneticamente distinte dalle popolazioni naturali. Non siamo a conoscenza di alcun metodo o tecnologia in grado di discriminare geneticamente i maschi irradiati da quelli non irradiati.

2.5 Metodi di coltura e produzione degli organismi

Le zanzare sterili di *Aedes albopictus* saranno importate dal *Centro Agricoltura Ambiente "G. Nicoli" srl (CAA)* di Crevalcore (Bologna, Italia), che gestisce una struttura di produzione su larga scala di livello di biosicurezza 2 (BLS2).

Tutte le procedure necessarie per la produzione dei maschi sterili sono definite nella SOP allegata. Il CAA si trova a circa 250 km a sud dei siti di sperimentazione nel Canton Ticino e ha una capacità produttiva di circa un milione di maschi sterili a settimana.

2.6 Fonte precisa e purezza dei ceppi e biotipi destinati all'esperimento, nonché nome e indirizzo dell'organizzazione che alleva gli insetti e informazioni precise sul sito (longitudine e latitudine, altitudine, habitat, ospiti) e sulle stagioni di raccolta sul campo

Il ceppo utilizzato per la sperimentazione è ottenuto da uova di *Aedes albopictus* raccolte sul campo in Svizzera (vedi sezione 2.2).

Il ceppo (*CH strain*) viene allevato su larga scala presso la struttura del CAA. I maschi sterili irradiati vengono ottenuti mediante esposizione a radiazioni ionizzanti nella fase pupale, che induce mutazioni casuali nelle linee germinali.

2.7 Regioni in cui gli organismi sono già stati rilasciati deliberatamente o accidentalmente ed esperienza acquisita

La tecnica dell'insetto sterile (SIT) è stata sviluppata diversi decenni fa e ha ottenuto numerosi successi nel controllo dei parassiti degli insetti. Più recentemente, la SIT è stata proposta per la soppressione delle zanzare nell'ambito di un approccio di *Integrated Vector Management (IVM)*. Questa tecnica è ecocompatibile, mirata specificamente alla specie bersaglio, limitata spazialmente e non persistente, caratteristiche che contribuiscono a proteggere la salute pubblica, la fauna non bersaglio e l'ambiente.

A partire dagli anni '30, la SIT è stata progressivamente applicata in agricoltura, contribuendo alla gestione di almeno 20 specie chiave di parassiti degli insetti. Le prime applicazioni efficaci della SIT contro le zanzare risalgono agli anni '60 e '70, con sperimentazioni pilota contro *Culex quinquefasciatus* e i vettori della malaria *Anopheles quadrimaculatus* in Florida (USA) e *An. albimanus* in El Salvador (America Centrale).

Valutazione dell'efficacia della tecnica del maschio sterile contro *Aedes albopictus* (zanzara tigre asiatica) in diversi ambienti urbani come misura di controllo integrato nell'ambito del programma Join TDR OMS/IAEA.

Lo sviluppo e il miglioramento delle fasi tecniche hanno portato a un rinnovato interesse internazionale per l'uso della SIT contro alcune delle principali specie vettori di *Plasmodium spp.* (malaria) (*An. arabiensis*) e del virus dengue (*Ae. albopictus* e *Ae. aegypti*). Oggi sono stati condotti test pilota su diversi continenti (Dyck et al. 2005; Oliva et al. 2021; Bouyer 2024).

Dall'ultima richiesta di rilascio, presentata nel 2021 e approvata nell'aprile 2022 (B21002), il numero di progetti sulla sterilizzazione maschile è aumentato a livello globale, dimostrando l'interesse e la necessità di valutare questa tecnica per ridurre l'incidenza delle malattie trasmesse dalle zanzare. In molte parti del mondo, infatti, oltre a non essere ecocompatibili, gli adulticidi utilizzati non sono più efficaci a causa delle resistenze sviluppate in seguito al loro utilizzo continuato. La tecnica del maschio sterile, applicata nella sua forma più semplice come in questo progetto, ossia senza l'aggiunta di batteri o biocidi, permette di evitare tali effetti.

Una spiegazione aggiornata della tecnica SIT e dei risultati ottenuti a livello globale è disponibile nella recente revisione di Jeremie Bouyer (2024). In particolare, la Tabella 1 del materiale supplementare elenca i 39 progetti attivi fino a febbraio 2024 e la loro adesione all'approccio condizionato a fasi per la sperimentazione della SIT (*phase conditional approach to testing SIT – PCA*). Sia l'articolo che il materiale supplementare sono allegati a questo documento.

A seguito delle sperimentazioni condotte tra il 2022 e il 2024, abbiamo completato la fase 2 dei PCA e la nostra richiesta riguarda il passaggio alla fase 3, ovvero la fase di ricerca prima dell'applicazione operativa, in cui la tecnica SIT può essere implementata come misura di controllo integrata.

Allegiamo inoltre a questo documento il rapporto sintetico sulla sperimentazione SIT 2022-2024 (*Rapporto SIT 2022-2024*). Sono in fase di preparazione due articoli con un'analisi statistica approfondita dei dati raccolti. Di seguito forniamo un riepilogo dei dati raccolti:

Maschi sterili rilasciati:

- La presenza residua di femmine nelle zanzare rilasciate è stata dello 0,41% nel 2022 (dati MRR), 0,33% nel 2023 (dati MRR) e 0,60% nel 2024 (dati di laboratorio prima della spedizione), tutte misure inferiori all'1%, come indicato nelle linee guida WHO-IAEA per la sperimentazione della SIT sul campo (WHO IAEA 2020).
- Il tasso di mortalità dopo il trasporto è stato del 43% quando la spedizione con DHL ha superato le 24 ore, mentre è stato solo del 2,1% con trasporto diretto via auto (3 ore).
- Distanza media percorsa: 69 m nel 2024 e 97,3 m nel 2023. In base ai dati raccolti, si stima che l'80% dei maschi rilasciati abbia coperto una superficie di 100 m e solo il 18% si sia spinto oltre i 100 m fino a un massimo di 200 m.
- Distanza massima percorsa: 115,8 m nel 2024 e 184,4 m nel 2023.
- Aspettativa di vita media: 2,18 giorni.
- Tasso di sopravvivenza giornaliero: 0,63.
- Fertilità residua: 0,03% (irradiazione a 40 Gy) e 0,3% (irradiazione a 35 Gy) rispetto a una fertilità naturale del 96,2%.

Riduzione delle zanzare:

- Sterilità indotta nelle uova: 18%.
- Riduzione della densità delle uova: 54,8%.
- Riduzione delle femmine adulte: 64,9%.

Essendo un paese donatore, non abbiamo potuto ricevere i fondi europei nell'ambito del progetto RER5026 *Enhancing the Capacity to Integrate Sterile Insect Technique in the Effective Management of Invasive Mosquitoes*, ma abbiamo partecipato agli incontri di scambio.

I dati raccolti sui rilasci di maschi sterili di *Ae. albopictus*, relativi a sopravvivenza, dispersione e trasporto, sono in linea con quelli di altri progetti europei. Tuttavia, diversamente dagli altri progetti europei, quello condotto in Canton Ticino è stato l'unico a svolgersi per l'intera stagione, per due stagioni consecutive, senza l'aggiunta di altri componenti (batteri o biocidi) e, soprattutto, senza ulteriori misure di controllo.

Negli altri progetti, infatti, sono state attuate misure ad hoc di rimozione dei siti di riproduzione e trattamenti larvicidi nell'area dell'esperimento. In Canton Ticino, invece, la tecnica SIT è stata applicata come complemento al sistema di controllo integrato già esistente, senza miglioramenti aggiuntivi.

Riteniamo che solo in questo modo sia possibile valutare se questa tecnica possa realmente fornire risultati interessanti per un sistema esteso di controllo della zanzara tigre, come quello in atto in Ticino e in molti altri cantoni.

2.8 Biologia ed ecologia

2.8.1 Diffusione naturale dell'organismo

La zanzara tigre è presente in tutte le aree urbanizzate del fondovalle del Canton Ticino. È nelle aree urbanizzate che trova i suoi luoghi di riproduzione, ovvero piccole raccolte d'acqua fornite da tombini, piccoli contenitori, ecc. (www.ti.ch/go/zanzare). L'adulto si allontana solo di pochi metri dal luogo di riproduzione (il suo raggio d'azione è stimato in meno di 100 m/anno). Le femmine possono entrare nei veicoli seguendo il loro ospite, disperdendosi così passivamente per diversi chilometri. Nel caso di un rilascio di maschi sterili, questi cercano le femmine già presenti nel territorio e la loro capacità di volo è stata determinata in poche centinaia di metri dal punto di rilascio (Bellini et al. 2010). Questi dati di Bellini sono stati da noi confermati nei 7 esperimenti di marcatura-rilascio-ricattura condotti a Morcote dal 2022 al 2024 (vedi sezione 2.7).

2.8.2 Ruolo e significato degli organismi nell'ecosistema di origine

La zanzara tigre in Canton Ticino rappresenta un fastidio per i cittadini a causa delle sue ripetute punture durante il giorno. Rappresentano inoltre un potenziale vettore di malattie come la dengue e la chikungunya, se importate (Fouque et al. 2020; Ravasi et al. 2020). Le zanzare maschio non pungono, quindi il rilascio di maschi sterili non rappresenta un problema sanitario. La tecnologia di separazione dei sessi disponibile per *Aedes* consente di separare i maschi dalle femmine con una precisione superiore al 99% di specificità. La presenza residua di femmine irradiate, che possono essere accidentalmente rilasciate insieme ai maschi, è completamente sterile, ma mantiene la sua attività di puntura antropofila. Tuttavia, la progressiva riduzione della densità della popolazione target di *Ae. albopictus* durante il picco naturale di presenza (agosto-settembre) minimizza fortemente questi rilasci accidentali, come confermato dagli esperimenti di Morcote, con una riduzione nei mesi di picco del 75,4%. Inoltre, nonostante l'eventuale presenza residua di femmine, queste vengono rilasciate insieme a un numero massiccio di maschi e si verifica un fenomeno di "molestie sessuali" in cui i maschi molestano costantemente le femmine vicine tentando di accoppiarsi con loro (Bouyer 2024). Questo fa sì che le femmine smettano di nutrirsi e di mordere o può addirittura portare a una riduzione della loro longevità. La zanzara tigre del Canton Ticino non ha un ruolo essenziale nell'ecosistema perché non influisce in modo significativo sulla catena alimentare di altri organismi

(ad esempio uccelli e ragni). Il rilascio di maschi sterili sarà integrato nella campagna standard di controllo dei vettori applicata contro *Ae. albopictus*, che prevede l'uso di biocidi larvicidi. I metodi SIT si combinano bene con qualsiasi altro metodo di controllo vettoriale, poiché non si rivolgono specificamente ai maschi sterili rispetto ai maschi selvatici. I metodi mirati agli stadi immaturi o alle femmine adulte sarebbero particolarmente compatibili, anzi sinergici, con i metodi SIT (Alphey et al., 2010). L'introduzione di biocidi selettivi ed ecologicamente sostenibili è stata approvata in Ticino per il programma di sorveglianza e controllo delle zanzare grazie al suo minimo impatto ambientale.

2.8.3 Descrizione della biologia, in particolare della loro riproduzione, delle modalità di diffusione biologica e dei requisiti relativi all'ospite, all'habitat e al clima degli organismi e dei loro possibili ospiti

I maschi di zanzara irradiati sono in grado di sopravvivere e disperdersi nell'ambiente naturale, accoppiandosi efficacemente con le femmine selvatiche della stessa specie. Le femmine selvatiche accoppiate con maschi sterili non possono produrre uova vitali, portando così a un declino della popolazione. Tuttavia, queste femmine possono mantenere una fertilità residua inferiore all'1%. La progenie che potrebbe eventualmente essere prodotta è stata segnalata come avente una fitness fortemente ridotta (Shetty et al., 2016).

La tecnica tradizionale dell'insetto sterile (SIT) ha una lunga storia di utilizzo sicuro, inclusa l'applicazione contro insetti che colpiscono i mammiferi, come il verme della vite del Nuovo Mondo, oltre che contro parassiti delle colture. Le linee di insetti sterilizzati tramite radiazioni non contengono segmenti di DNA aggiuntivi che codifichino per tossine o prodotti genici tossici, né componenti che conferiscano un vantaggio selettivo a qualsiasi insetto o microbo che potrebbe in qualche modo acquisire tutto o parte di questo DNA (Alphey et al., 2010).

Le femmine irradiate che potrebbero essere accidentalmente rilasciate insieme ai maschi sono completamente sterili. Non esistono rischi di diffusione biologica associati al rilascio di zanzare sterili. La durata media della vita di una zanzara adulta sterile in estate è stimata essere inferiore a 2 settimane (Bellini et al., 2010).

2.8.4 Descrizione degli organismi testati come ospiti e metodi di indagine sulla specificità dell'ospite

Come altre specie di zanzare, solo le femmine necessitano di un pasto di sangue per sviluppare le uova. Oltre a questo, si nutrono di nettare e altri succhi vegetali dolci, proprio come i maschi. I picchi di attività variano, ma per la maggior parte del tempo riposano durante le ore del mattino e della notte. Cercano i loro ospiti sia all'interno che all'esterno delle abitazioni umane, ma sono particolarmente attive all'aperto. Le loro punture non sono necessariamente dolorose, ma risultano più percepibili rispetto a quelle di altre zanzare. Le zanzare tigre tendono generalmente a pungere un ospite più volte, se ne hanno la possibilità. *Aedes albopictus* può pungere anche altri mammiferi oltre agli esseri umani, così come gli uccelli (Hawley, 1988). Il maschio sterile di *Aedes albopictus* non ha quindi organismi ospiti.

2.8.5 Descrizione dei possibili organismi associati (nemici naturali, patogeni, commensali) e metodi per la loro eliminazione

La predazione naturale delle zanzare tigre nel Canton Ticino è praticamente nulla. Il numero di uccelli che se ne nutrono non è significativo. L'IM/SUPSI ha condotto analisi genetiche delle feci

degli uccelli, in collaborazione con l'associazione Ficedula, per cercare di dimostrare la predazione, ma non ha trovato prove a supporto (risultati di un progetto preliminare interno dell'IM). (Vedere sezione 2.8.2).

2.8.6 Resistenze o sensibilità particolari (freddo, siccità, prodotti fitosanitari, ecc.)

I maschi sterili verranno rilasciati durante la stagione naturale di attività della zanzara tigre in Canton Ticino (maggio-ottobre). Questi maschi presentano le stesse caratteristiche delle zanzare tigre locali, da cui derivano dopo il processo di radio-sterilizzazione. (Vedere sezione 2.8.3).

2.8.7 Distribuzione geografica attuale

I maschi sterili di zanzara tigre vengono prodotti a partire da zanzare tigre del Canton Ticino, dove la specie è già presente in tutta la zona di pianura.

2.8.8 Persistenza e moltiplicazione nelle condizioni della Svizzera

I maschi adulti di *Aedes albopictus* sono sterili e hanno una durata media della vita inferiore a una settimana nelle condizioni climatiche del Canton Ticino, come confermato nei sette esperimenti di marcatura-rilascio-ricattura condotti a Morcote tra il 2022 e il 2024, che hanno rilevato un'aspettativa di vita media di 2,18 giorni (vedere sezione 2.7).

2.8.9 Informazioni sul comportamento invasivo in altre aree da parte degli organismi stessi o di organismi strettamente correlati

Le zanzare tigre non irradiate sono considerate tra gli organismi invasivi più efficaci, avendo conquistato la maggior parte dei continenti ed essendo in continua espansione. Si sono spostate prevalentemente tra i continenti nelle loro forme giovanili (uova e larve), mentre gli adulti, entrando clandestinamente nei veicoli, hanno potuto spostarsi facilmente tra le nazioni ([ECDC](#)). Anche le zanzare irradiate potrebbero entrare nei veicoli da adulte, ma poiché non possono riprodursi e vivono meno di una settimana (vedi sezione 2.7), non vi è alcun rischio di diffusione invasiva.

3 Esecuzione del rilascio sperimentale

3.1 Descrizione del rilascio sperimentale, inclusi i metodi e la quantità di organismi da rilasciare

I maschi sterili di *Aedes albopictus* verranno rilasciati a livello del suolo. I rilasci saranno effettuati per coprire l'intera stagione delle zanzare, ossia 5 mesi all'anno in Canton Ticino. La dose adeguata di maschi sterili da rilasciare può essere stimata in base alla densità della popolazione locale di zanzare, monitorata con metodi standard come le ovitrappole. Si ritiene necessario mantenere un rapporto tra maschi sterili e maschi selvatici compreso tra 5:1 e 10:1 durante la stagione per ottenere un impatto significativo sulla popolazione bersaglio. La quantità effettiva di maschi sterili da rilasciare dipende anche dalla qualità dei maschi sterili e dalle condizioni ambientali. Pertanto, per ottenere un impatto efficace sulla fertilità naturale, le dosi di rilascio verranno modulate in base ai dati raccolti dalle stazioni di monitoraggio sul campo.

La densità della popolazione locale di maschi selvatici può essere stimata sulla base della relazione tra il numero medio di uova raccolte dalle ovitrappole sul campo e la densità dei maschi adulti misurata direttamente nell'area di studio mediante metodi di campionamento degli adulti o analisi

della raccolta su atterraggio umano (HLC). In uno studio condotto in Italia, la relazione tra il numero di maschi selvatici per ettaro (Mw) e il numero di uova per ovitrappola a settimana (ECAA7) è stata definita dalla formula:

$$MW = 3,45 * ECAA7,$$

dove ECAA7 rappresenta il numero di uova per ovitrappola per settimana (Carrieri et al., 2017).

Il numero di maschi sterili da rilasciare può quindi essere determinato in base alla stima della densità della popolazione naturale, che ovviamente può variare nel corso della stagione.

Nei villaggi di studio proposti in Svizzera, seguendo il numero medio di uova per ovitrappola per settimana osservato negli ultimi anni, il numero previsto di maschi sterili da rilasciare settimanalmente varierà tra 1000 e 3000 maschi/ha/settimana, al fine di raggiungere un rapporto tra maschi sterili e fertili compreso tra 5:1 e 10:1 nell'arco dell'intera settimana.

La definizione della periodicità più conveniente per i rilasci dipenderà dalla sopravvivenza giornaliera dei maschi sterili, che è correlata alla temperatura e all'umidità relativa. Tuttavia, nei test condotti a Morcote, è stato osservato che è consigliabile effettuare i rilasci due volte a settimana, poiché i maschi di solito non sopravvivono più di una settimana ed è necessario mantenere densità adeguate affinché possano competere con successo per accoppiarsi con le femmine selvatiche.

Il numero di maschi sterili presenti in un determinato giorno sarà stimato tenendo conto del numero di maschi sterili rilasciati nell'ultima immissione, secondo il tasso di sopravvivenza maschile (SR), in funzione dell'umidità relativa (RH), come descritto in Bellini et al. (2010) utilizzando la seguente equazione:

$$SR = 0,02 RH - 0,48$$

Questa equazione è considerata valida per un intervallo di RH compreso tra 48% e 72,5%; al di sopra del 72,5%, si assume che SR sia pari al 97%, mentre al di sotto del 48%, si assume che SR sia pari al 52%.

Oltre alla stima indiretta sopra proposta, le densità della popolazione selvatica di maschi e femmine di *Aedes albopictus* possono essere stimate direttamente tramite raccolta su atterraggio umano o metodi di trappolaggio degli adulti, nell'ambito di una sorveglianza dedicata condotta nelle aree di studio, seguendo una metodologia dettagliata in FAO/IAEA (2020).

Non verranno implementati ulteriori test di Marcatura, Rilascio e Ricattura (MRR) con questo esperimento, poiché abbiamo già raccolto dati sufficienti con PCA 2, e i nostri risultati si sono dimostrati in linea con quelli raccolti da altri progetti europei.

In assenza di uno studio MRR, il rapporto tra maschi e femmine (M/F) nelle aree di rilascio e di controllo può essere calcolato e confrontato per determinare il rapporto tra maschi sterili e selvatici nell'area di rilascio per ogni settimana di monitoraggio delle uova, utilizzando l'equazione:

$$RS/W = [(Ms + Mw) / Fw] \cdot (Fc/Mc) - 1,$$

dove:

- RS/W è il rapporto tra maschi sterili e selvatici;

- Ms, Mw e Fw sono rispettivamente il numero di maschi sterili, maschi selvatici e femmine selvatiche raccolti nell'area di rilascio;
- Fc e Mc sono rispettivamente il numero di femmine e maschi raccolti nell'area di controllo (Bellini et al., 2020).

I rilasci dei maschi sterili saranno effettuati in aree pubbliche all'aperto, distanziati di circa 80-100 metri in zone semiombreggiate. I maschi sterili voleranno via nei 15 minuti successivi al rilascio e poi "scompariranno". La mortalità in campo verrà determinata dopo un'ora, contando i maschi che non hanno preso il volo nei punti di rilascio.

3.2 Calendario sperimentale

Lo studio SIT sul campo sarà condotto per tre anni (2025, 2026 e 2027) durante la stagione attiva delle zanzare, da maggio a ottobre. La ricerca sarà svolta in 21 siti distribuiti nei quattro distretti del Canton Ticino (Mendrisio, Lugano, Bellinzona e Locarno) con le maggiori densità di *Ae. albopictus*.

Nota bene: lo studio è previsto sui tre anni 2025-27 qualora arrivasse a fine marzo 2025 la conferma dei finanziamenti. Altrimenti bisognerà cercare i finanziamenti altrove. Si richiede quindi di poter estendere il permesso di ulteriori 2 anni qualora si dovesse spostare l'inizio del progetto effettuando comunque i rilasci con le stesse modalità .

I rilasci dei maschi sterili saranno effettuati due volte a settimana, con una dose definita nel paragrafo 3.1. Tuttavia, le attività di sorveglianza e raccolta dati si estenderanno per un periodo più lungo (aprile-novembre) per raccogliere informazioni sia prima che dopo l'"effetto" del trattamento.

I siti verranno progressivamente trattati con il metodo SIT seguendo la pianificazione riportata nella Tabella 1:

2025 → 7 siti saranno trattati, mentre 14 fungeranno da controllo.

2026 → i 7 siti di controllo del 2025 saranno trattati, portando a 14 siti trattati.

2027 → i 7 siti di controllo del 2025 e 2026 saranno trattati, mentre i 7 siti trattati nel 2025 e 2026 non verranno più trattati ma solo monitorati.

L'idea alla base di questo design sperimentale è che ogni sito possa essere inizialmente un controllo e successivamente un trattato.

Per i 7 siti trattati nel primo anno (2025), i dati di controllo vengono già raccolti nel 2024. Questo implica che ogni sito può fungere da proprio controllo, riducendo la variabilità tra siti e tra ovitrappole utilizzate per misurare la densità delle uova in un sito.

Un altro vantaggio di questo design è che ci permette di separare l'effetto dell'anno di calendario (2025, 2026 e 2027) dall'effetto dell'anno di trattamento (primo e secondo anno di trattamento). Questo è un nuovo approccio di analisi dei dati per esperimenti SIT, sviluppato in collaborazione con la società Zurich Data Scientists (www.zurich-data-scientists.ch).

Secondo la nostra valutazione, questo metodo ottimizza il grande sforzo richiesto per la raccolta dei dati sul campo e riduce la loro variabilità legata all'anno di raccolta. Anche il progetto SIT Tahiti si è mostrato interessato a questo nuovo metodo di analisi e ci ha contattato per maggiori dettagli.

Per ulteriori informazioni sull'analisi dei dati, si rimanda al rapporto redatto per il Comitato svizzero di esperti per la biosicurezza in allegato.

Site	Region	Municipality	Type	2025	2026	2027
1	Mendrisiotto	Chiasso	Urban with buildings	Release SIT	Release SIT	Control
2	Mendrisiotto	Balerna	Old town + residential	Release SIT	Release SIT	Control
3	Mendrisiotto	Coldrerio	Old town + residential	Control	Release SIT	Release SIT
4	Mendrisiotto	Castel San Pietro	Residential	Control	Control	Release SIT
5	Mendrisiotto	Mendrisio	Urban with buildings	Control	Release SIT	Release SIT
6	Mendrisiotto	Riva San Vitale	Old town + residential	Control	Control	Release SIT
7	Luganese	Melide	Old town + residential	Release SIT	Release SIT	Control
8	Luganese	Paradiso	Urban with buildings	Control	Release SIT	Release SIT
9	Luganese	Lugano (Viganello)	Urban with buildings	Release SIT	Release SIT	Control
10	Luganese	Lugano (Breganzona)	Old town + residential	Control	Release SIT	Release SIT
11	Luganese	Muzzano	Old town + residential	Control	Control	Release SIT
12	Luganese	Muzzano e Agno	Camping	Control	Control	Release SIT
13	Bellinzonese	Bellinzona (Camorino)	Residential	Control	Control	Release SIT
14	Bellinzonese	Bellinzona (Giubiasco)	Urban / Residential	Control	Release SIT	Release SIT
15	Bellinzonese	Bellinzona	Government and surroundings	Release SIT	Release SIT	Control
16	Locarnese	Tenero-Contra e Minusio	Camping	Control	Control	Release SIT
17	Locarnese	Locarno (verso Lido)	Urban with buildings	Control	Control	Release SIT
18	Locarnese	Locarno (nord ovest)	Urban with buildings	Control	Release SIT	Release SIT
19	Locarnese	Ascona	Residential	Control	Release SIT	Release SIT
20	Locarnese	Ascona	Old town + residential	Release SIT	Release SIT	Control
21	Locarnese	Losone	Hotel and surroundings	Release SIT	Release SIT	Control

Tabella 1. Calendario del SIT e comuni interessati. Nota bene: Qualora si dovesse spostare l'inizio dell'esperimento negli anni, lo schema rimarrebbe comunque il medesimo.

3.3 Interventi nei siti di rilascio sperimentale prima, durante e dopo il rilascio

Durante la sperimentazione, verrà condotta una regolare campagna di controllo delle zanzare tramite trattamenti larvicidi e il coinvolgimento della comunità in tutti i siti. Tuttavia, i trattamenti adulticidi verranno effettuati solo in caso di rilevamento di casi di dengue, Zika o chikungunya e saranno applicati in modo mirato (peri-focale).

La densità della popolazione locale di zanzare selvatiche sarà monitorata regolarmente attraverso ovitrappe standard, gestite ogni due settimane. Saranno inoltre condotte osservazioni sul tasso di fertilità/sterilità delle uova, applicando un protocollo di schiusa validato.

Particolare attenzione sarà posta nell'identificare le uova di *Aedes* raccolte a livello di specie, per evitare errori di interpretazione dei dati e per evidenziare eventuali effetti della Tecnica dell'Insetto Sterile (SIT) su specie non bersaglio che coesistono con *Ae. albopictus*, come *Ae. japonicus* e *Ae. koreicus*.

Il tasso di sterilità indotta e l'impatto sulla densità della popolazione locale di zanzare saranno misurati confrontando i dati con quelli di aree di controllo simili nelle vicinanze. Saranno inoltre utilizzati dati entomologici storici disponibili in queste zone come riferimento comparativo.

Verrà sviluppato anche un modello di valutazione del rischio per stimare la soglia di contaminazione delle femmine in diversi contesti, al fine di supportare i programmi SIT.

Valutazione dell'efficacia della tecnica del maschio sterile contro *Aedes albopictus* (zanzara tigre asiatica) in diversi ambienti urbani come misura di controllo integrato nell'ambito del programma Join TDR OMS/IAEA.

In aggiunta, l'area sarà monitorata due volte al mese da maggio a ottobre, utilizzando trappole per adulti lungo un transect dal punto centrale di rilascio fino a 500 m (Figura 2), per determinare la densità e il sesso delle zanzare catturate.

In alcuni siti, le femmine raccolte sul campo verranno anche dissezionate, per valutare se il numero di cicli gonotrofici (ovodeposizione dopo il pasto di sangue) nelle zanzare selvatiche sia ridotto grazie all'effetto SIT.

Tutti i comuni selezionati per questo studio sono stati informati del progetto e hanno confermato, tramite delibere municipali, la loro disponibilità a ospitare i rilasci sperimentali nei loro territori.

3.4 Processi di inattivazione degli organismi dopo il completamento del rilascio sperimentale

La Tecnica dell'Insetto Sterile (SIT) è una strategia di controllo genetico auto-limitante, basata sul rilascio continuo di maschi sterili per indurre sterilità nella popolazione selvatica.

I maschi sterili rilasciati nel campo sopravvivranno meno di una settimana, garantendo che non ci sia persistenza della popolazione sterile dopo la conclusione del programma.

4 Siti del rilascio sperimentale

Lo studio verrà condotto in 21 siti, distribuiti nei quattro distretti del Canton Ticino (Mendrisio, Lugano, Bellinzona e Locarno), individuati sulla base delle più alte densità di *Ae. albopictus* (vedi Tabella 1 e Grafico 1).

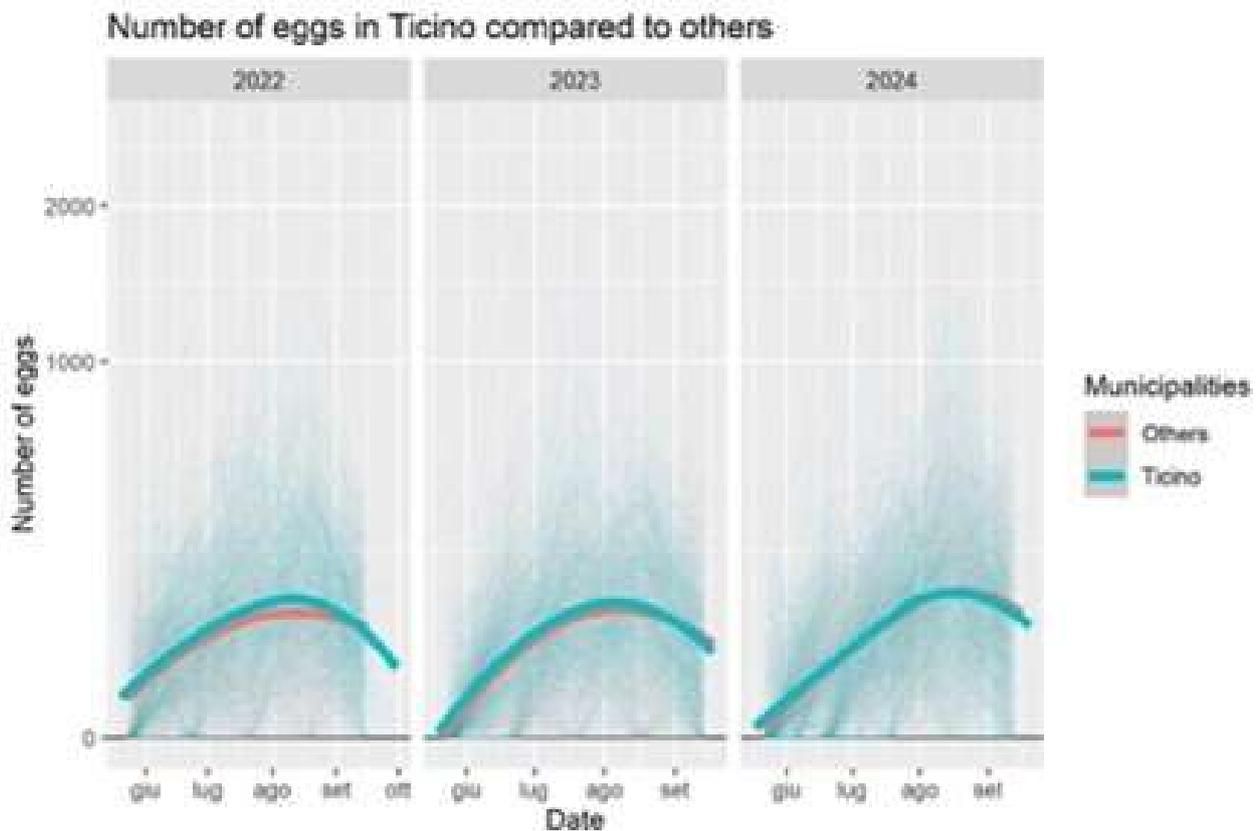


Grafico 1. Densità delle uova di *Aedes albopictus* negli anni 2022, 2023 e 2024

La linea rossa "altri" rappresenta la densità media delle uova nei seguenti comuni, che sono gli stessi selezionati per le prove SIT: Chiasso, Balerna, Coldrerio, Castel San Pietro, Mendrisio, Riva San Vitale, Melide, Paradiso, Lugano, Muzzano, Agno, Bellinzona, Tenero-Contra, Locarno, Ascona e Losone. La linea blu "Ticino" rappresenta la densità media delle uova provenienti da tutte le ovitrappole installate in più di 85 comuni coinvolti nel sistema cantonale di sorveglianza per *Aedes albopictus*.

Le densità delle uova di zanzara tigre rilevate negli ultimi anni nei siti selezionati (indicati come "altri" nel grafico) sono in linea con quelle rilevate a livello cantonale in Ticino.

I siti coprono diversi tipi di habitat tipicamente associati all'infestazione da *Ae. albopictus* in Ticino, come: centro urbano, centro di un villaggio, area residenziale, campeggio, hotel e dintorni. Ogni sito avrà un'area centrale di circa 12 ettari (Figura 1). L'area centrale è rappresentata come un cerchio con un raggio di 200 m, basato sulla massima distanza percorsa autonomamente da *Ae. albopictus*. La misura di 100-200 m di spostamento autonomo della zanzara tigre è quella adottata dai sistemi europei (Italia, Francia, Spagna e Svizzera) per gli interventi adulticidi in caso di introduzione di arbovirus. Le dimensioni dell'area sono state progettate per minimizzare l'ingresso naturale delle zanzare dall'esterno fino al centro dell'esperimento. Nei siti trattati con SIT (Figura 2, cerchio rosso), i maschi sterili verranno rilasciati due volte a settimana su tutta l'area tramite 18 punti di rilascio distribuiti uniformemente (punti rossi nel cerchio rosso). La densità e la fertilità delle uova verranno valutate sia nei siti SIT che nei siti di controllo ogni due settimane, mediante ovitrappole (1 ovitrappola per ettaro; punti blu). La densità degli adulti e il rapporto tra i sessi verranno monitorati

con la stessa frequenza, tramite trappole per adulti (punti verdi) distribuite lungo un transetto. L'effetto bordo della tecnica SIT verrà valutato raccogliendo dati su uova e adulti in un'area di confine selezionata casualmente (settore verde) di 12 ettari (che si estende per circa 300 m dal bordo dell'area centrale).

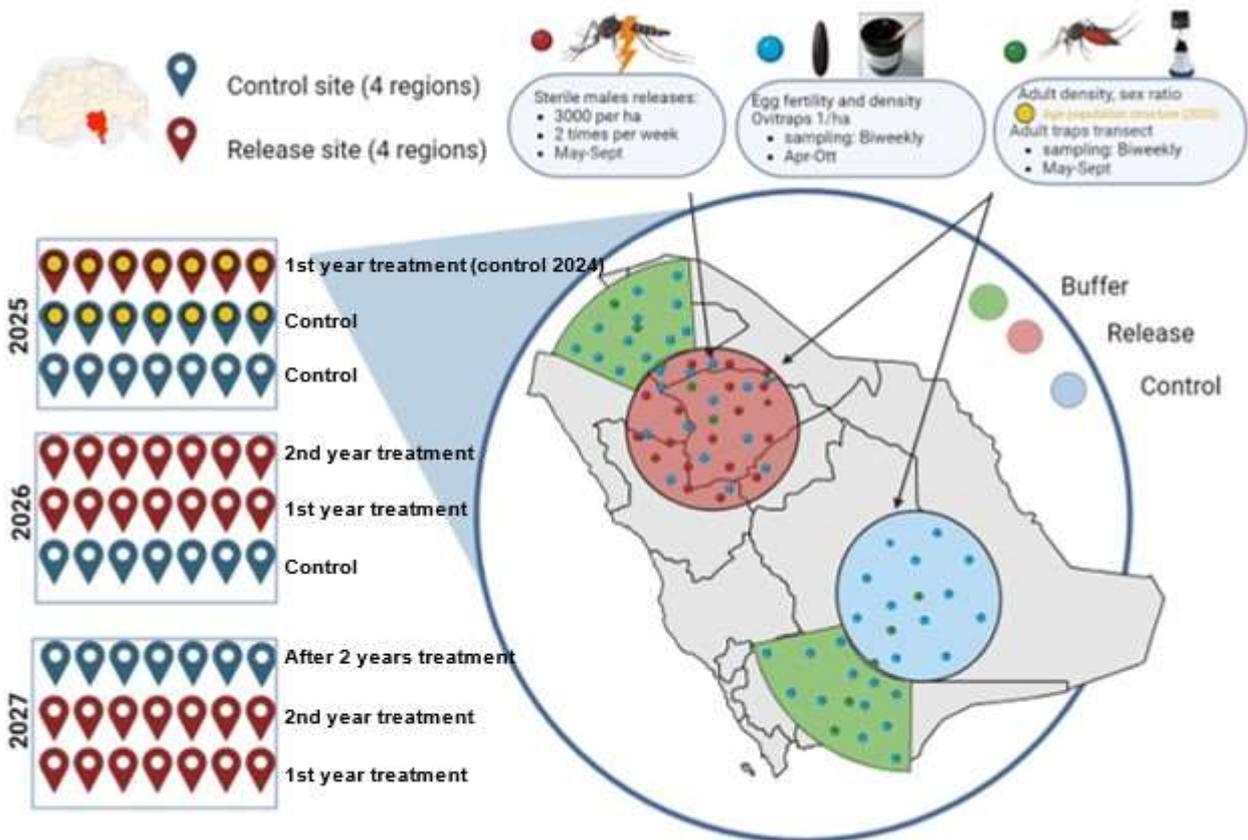


Figura 2. Disegno sperimentale. Immagine creata con BioRender.com.

4.1 Situazione geografica, dimensioni del sito di rilascio sperimentale e descrizione dell'ambiente circostante



Figura 3. Esempio di sito: Coldrerio. Il cerchio centrale con un raggio di 200 metri rappresenta l'area di rilascio dei maschi sterili. L'anello esterno tra i 200 e i 500 metri dal punto centrale definisce l'area di controllo dove i dati saranno raccolti in una frazione randomizzata, come indicato dall'ombreggiatura rossa in questo caso.

Una descrizione generale delle aree scelte, centro città, nucleo del paese, area residenziale, campeggio, hotel e dintorni, è elencata nella Tabella 1 e la Figura 3 mostra l'immagine satellitare di

una delle aree scelte come esempio. Il seguente link mostra una vista completa delle aree preselezionate:



Tutti i comuni selezionati in questo studio sono stati informati del progetto e hanno confermato, attraverso delibere comunali, di volere che questi rilasci vengano effettuati nei loro territori (vedi allegato 6).

Climatic, geological and pedological characteristics of the site of the experimental release and its nearby surroundings

Le caratteristiche geologiche e del suolo non sono rilevanti per questi rilasci, mentre lo sono le caratteristiche climatiche (grafico 2). Queste condizioni climatiche sono favorevoli alla sopravvivenza degli adulti di zanzara tigre.

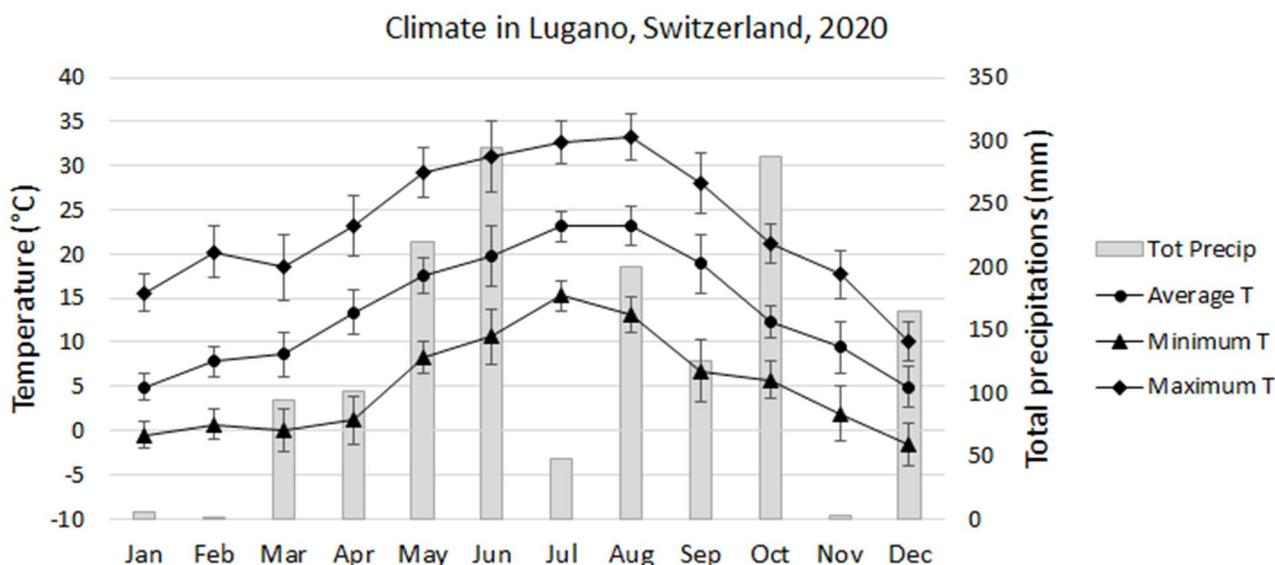


Grafico 2. Temperature e precipitazioni nella regione di Lugano nel 2020

Valutazione dell'efficacia della tecnica del maschio sterile contro *Aedes albopictus* (zanzara tigre asiatica) in diversi ambienti urbani come misura di controllo integrato nell'ambito del programma Join TDR OMS/IAEA.

Per il rilascio di maschi sterili, sono stati scelti specificamente comuni sia nel nord che nel sud del Ticino per valutare se i fattori climatici influenzano l'efficacia della tecnica del maschio sterile (SIT). La zanzara tigre in Europa, e in particolare nel Canton Ticino, è confinata nelle aree urbane perché solo in queste aree trova siti di ovideposizione che ne consentono la riproduzione (es. tombini, sottovasi, ecc.). Infatti, a meno che non siano presenti contenitori artificiali nelle foreste, come rifiuti abbandonati, la vegetazione locale (es. cavità negli alberi) non riesce a trattenere abbastanza acqua a causa della sua struttura e della frequenza delle precipitazioni per sostenere lo sviluppo delle zanzare. In questo senso, il settore di Ecologia dei Vettori dell'IM ha già condotto numerosi studi, alcuni dei quali sono in fase di pubblicazione, in cui sono stati confrontati anche i comportamenti di deposizione delle uova e di puntura delle specie invasive *Aedes albopictus* e *Aedes japonicus*. Da questi studi emerge chiaramente che, mentre entrambe le specie depongono le uova nelle aree urbane, dove trovano siti di ovideposizione, hanno un comportamento diametralmente opposto per quanto riguarda la loro vita adulta, ovvero la puntura e il riposo: *Ae. albopictus* è attiva nelle aree urbane, mentre *Ae. japonicus* è attiva nella foresta o ai suoi margini. Per questo motivo, i siti vicini alle aree naturali non rappresentano un problema. Il fatto che per caso alcune zanzare possano entrare in un'auto è irrilevante per questo tipo di esperimento, poiché i maschi, non essendo pungenti, non tendono a seguire gli esseri umani e quindi a entrare nelle auto, mentre alcune femmine (comunque rare nell'esperimento), non essendo fertili, non saranno in grado di diffondere l'esperimento altrove e moriranno di morte naturale entro una settimana.

I maschi (sterili e selvatici) così come le femmine (in misura maggiore) entrano nei veicoli quando le persone salgono in macchina, e non vi è trasporto passivo quando le auto sono in movimento. Inoltre, le autostrade sono state proposte come potenziali barriere alla dispersione di *Aedes aegypti*, e alcuni studi hanno riportato un effetto inibitorio delle autostrade sul comportamento di dispersione di questa specie (Hemme et al. 2010).

4.3 Flora e fauna, compresi colture, bestiame e specie migratorie

I rilasci verranno effettuati esclusivamente in aree urbane o antropizzate (città, zone residenziali, campeggi, hotel), pertanto non vi sono particolari specifiche per la protezione della flora e fauna locale.

4.4 Descrizione dell'ecosistema

Come indicato al punto 4.3, i rilasci avverranno esclusivamente in aree urbane o antropizzate; quindi, non vi sono specifiche particolari per la protezione di ecosistemi specifici.

5 Possibili effetti

5.1 Effetti sugli esseri umani e sugli animali, in particolare rischi per la salute (es. effetti allergenici, patogeni o tossici, irritazioni cutanee, trasmissione di malattie)

I maschi sterili di zanzara tigre provengono da popolazioni del Canton Ticino, non sono stati geneticamente modificati e non pungono. Non si prevedono effetti dovuti al loro rilascio. Una piccola percentuale (meno dell'1%) di femmine potrebbe essere accidentalmente rilasciata, sebbene sterili. In questo caso, le femmine punterebbero, quindi durante i primi rilasci primaverili potrebbe verificarsi un minimo aumento del fastidio per la popolazione residente. Durante la stagione, tuttavia, il numero

totale di zanzare locali dovrebbe diminuire drasticamente grazie all'esperimento, riducendo quindi anche il fastidio causato dalle punture, che in Ticino diventa normalmente percepibile dalla fine di luglio. Le zanzare femmine possono anche essere potenziali vettori di malattie trasmesse da zanzare. Tuttavia, queste malattie non sono presenti sul territorio ed esiste un sistema di allerta con l'Ufficio del Medico Cantonale (Fouque et al. 2020). Inoltre, la capacità vettoriale per i virus chikungunya e dengue nelle zanzare *Ae. albopictus* irradiate (40 Gy) non è risultata diversa dai valori registrati nelle popolazioni selvatiche (Balestrino et al. 2021, in revisione). L'irradiazione può anche alterare la frequenza del pasto di sangue nelle specie di *Aedes*, riducendone potenzialmente la capacità vettoriale (Cunningham et al. 2020, Aldridge et al. 2020). Se dovesse verificarsi un caso di una persona affetta da una delle malattie trasmissibili, l'esperimento verrebbe sospeso e verrebbero applicati i trattamenti previsti dal piano d'azione per il contenimento delle malattie trasmesse dalla zanzara tigre. Finora, anche grazie a questo piano d'azione, non si sono mai verificati casi di trasmissione locale di malattie nel Canton Ticino. L'eliminazione o la soppressione di una specie esotica invasiva potrebbe essere considerata desiderabile. Inoltre, in Ticino non vi sono animali che si nutrono esclusivamente di zanzare allo stadio adulto o immaturo. In ogni caso, la specificità della tecnica SIT garantisce che solo una singola specie verrebbe rimossa o soppressa; l'approccio SIT è mirato e ambientalmente sostenibile e può comunque essere reversibile prima dell'eradicazione globale della specie bersaglio (Alphey et al. 2010).

5.2 Effetti sull'ambiente e sulla biodiversità

Come descritto nella Sezione 2.8.2, la zanzara tigre nel Canton Ticino non fa parte di alcuna catena alimentare particolare. La sua riproduzione in piccoli focolai urbani crea una competizione con un'altra specie di zanzara locale, *Culex pipiens*, che tuttavia si riproduce anch'essa in aree urbane con contenitori artificiali simili. Una riduzione della zanzara tigre durante l'esperimento potrebbe favorire *Culex pipiens*, ma questa specie è comunque soggetta alle azioni di controllo della fase acquatica della zanzara tigre (trattamenti larvicidi e rimozione dei focolai), misure integrate che fanno parte del sistema di sorveglianza contro la zanzara tigre in Ticino e che continueranno regolarmente. Inoltre, i siti di riproduzione di *Culex pipiens* sono più facili da identificare e quindi da controllare rispetto a quelli di *Ae. albopictus*, poiché quest'ultima è in grado di svilupparsi anche in quantità d'acqua molto inferiori. Per gli insetti, i dati filogenetici mostrano che il trasferimento genico orizzontale (trasferimento diverso dall'incrocio) è estremamente raro, anche su una scala temporale di milioni di anni, tra specie strettamente imparentate. Per il metodo SIT, per un predatore o uno spazzino che si nutre della zanzara, o per un mammifero punto da essa, le conseguenze sarebbero esattamente le stesse di quelle causate da una normale zanzara selvatica (Alphey et al. 2010).

5.2.1 Effetti sui processi ambientali o sulle funzioni importanti del suolo

Nessun effetto da segnalare.

5.2.2 Potenziale di insediamento e diffusione nel sito di rilascio sperimentale

Le zanzare sono sterili; quindi, non c'è possibilità che si insedino.

5.2.3 Ruolo ecologico previsto nel sito di rilascio sperimentale, identificazione e descrizione degli organismi bersaglio, conseguenze degli effetti sugli organismi bersaglio

Lo scopo dell'esperimento è ridurre la popolazione locale di zanzare tigre durante la stagione. Ciò è stato confermato dall'esperimento condotto a Morcote, che ha registrato una riduzione delle femmine del 67%.

5.2.4 Nemici naturali degli organismi bersaglio nel sito di rilascio sperimentale che potrebbero essere indirettamente influenzati

Non esistono nemici naturali rilevanti per la zanzara tigre nel Canton Ticino (vedi sezioni 2.8.2 e 5.2).

5.2.5 Possibili effetti diretti e indiretti sugli organismi non bersaglio

I maschi sterili di *Aedes albopictus* si accoppiano selettivamente con femmine della stessa specie; quindi, non ci sono organismi non bersaglio coinvolti.

5.2.6 Possibile competizione con o sostituzione di specie indigene

Vedi sezione 5.2: non esiste alcun rischio di sostituzione di specie autoctone.

5.2.7 Potenziale di ibridazione con ceppi o biotipi indigeni

Essendo sterili, i maschi non producono prole. I maschi sterili hanno una fertilità residua inferiore all'1%. La prole che potrebbe eventualmente essere prodotta presenta una fitness fortemente ridotta (vedi sezione 2.8.3).

5.2.8 Effetti sulle piante

Le zanzare si nutrono delle sostanze zuccherine delle piante, ma non sono considerate parassiti delle piante. Pertanto, nessun effetto.

5.2.9 Altri possibili effetti significativi

Nessuno.

6 Misure di sicurezza

6.1 Precauzioni

6.1.1 Metodi e procedure per prevenire o minimizzare la diffusione degli organismi al di fuori del sito di rilascio sperimentale

Gli esperimenti di marcatura-rilascio-ricattura condotti a Morcote dimostrano che i maschi non volano tipicamente per più di 100 metri in media; quindi, la loro stessa natura impedisce la loro presenza in aree lontane dall'esperimento. La zanzara rilasciata nelle aree target può essere controllata in qualsiasi momento semplicemente interrompendo il rilascio dei maschi sterili, che sopravviveranno in campo per un tempo limitato (Bellini et al. 2010). Le aree di prova possono essere separate da una zona cuscinetto sufficiente di circa due volte la distanza stimata di

dispersione delle zanzare. Per ridurre ulteriormente la persistenza degli organismi rilasciati, si possono utilizzare barriere dense di trappole letali specifiche (Oliva et al. 2021).

La stima della dimensione della popolazione verrà effettuata in base ai metodi descritti nel paragrafo 3.1. Considerando i risultati precedenti ottenuti in diversi studi sul campo (Bellini et al. 2013; 2020), la popolazione selvatica può essere efficacemente monitorata con l'uso di ovitrappole. Sebbene la tecnica SIT si basi tipicamente sul rilascio routinario di un rapporto fisso e abbondante di maschi sterili per mantenerne la massima efficacia in campo, la dose di rilascio può essere modulata in base ai risultati della dinamica di popolazione misurati tramite ovitrappole.

Si prevede di installare ovitrappole e trappole per adulti per monitorare la dinamica della popolazione attorno al sito di prova.

6.1.2 Metodi e procedure per prevenire l'accesso non autorizzato al sito di rilascio sperimentale

Non sono necessarie procedure per prevenire l'accesso non autorizzato al sito di rilascio, data la natura specie-specifica del metodo.

I maschi sterili arriveranno dall'Italia, come nell'esperimento condotto a Morcote, e verranno rilasciati direttamente nel sito sperimentale. I maschi sterili saranno liberati immediatamente all'arrivo nel sito di prova senza necessità di mantenerli in condizioni di laboratorio. Come descritto nelle SOP allegate del CAA, dopo l'arrivo a destinazione, i maschi verranno immediatamente trasferiti dalle scatole di trasporto dedicate a contenitori più grandi direttamente sul campo. I maschi raffreddati si risveglieranno direttamente in campo e si disperderanno nell'area.

6.1.3 Metodi e procedure per prevenire l'ingresso di altri organismi nel sito

L'introduzione di altri organismi all'interno del sito sperimentale non può produrre alcuna contaminazione dell'organismo stesso o dell'ambiente, poiché i maschi sterili della zanzara tigre sono selettivi nell'accoppiamento con le femmine della stessa specie.

Il rilascio dei maschi sterili verrà effettuato in 21 siti (sezione 4.1.), dove saranno rilasciati a terra allo stadio adulto a diverse densità di rilascio aprendo le scatole contenenti circa 36.000 maschi sterili per scatola da punti di rilascio distribuiti omogeneamente. La distanza tra i punti di rilascio sarà compresa tra 80-100 m. In tutte le località verrà condotta un'attività di monitoraggio mediante ovitrappole posizionate con una densità di 1 per ettaro nelle aree di rilascio e 1 per ettaro nelle aree di controllo (Figura 2).

L'esperimento non sarà più condotto in un'area isolata da barriere naturali come quella di Morcote, poiché l'obiettivo è testarne l'efficacia operativa in situazioni urbane. Ridurre la zanzara tigre in un'area isolata con misure di controllo integrate (rimozione dei focolai larvali e trattamento di quelli non rimovibili casa per casa) è relativamente semplice se si opera con coerenza e precisione. In un'area isolata, senza continue introduzioni, si può persino ottenere l'eliminazione temporanea della specie. Ciò è già accaduto in diversi casi nel Canton Ticino, e il caso più eclatante in Svizzera è stato quello di Wollishofen, un quartiere di Zurigo, dove una gestione attenta ha eliminato la zanzara tigre: trovata nel 2018 e 2019, poi non più rilevata dal 2020 (Gabi Müller, rapporto Swiss Mosquito Network). La tecnica del maschio sterile, con l'aggiunta di un biocida, ha dimostrato la sua efficacia

in aree isolate come il Brando Hotel in Polinesia Francese contro *Aedes polynesiensis* (<https://www.bbc.com/news/business-48380590>).

Lo scopo di questo esperimento è testare l'efficacia in diversi tipi di aree urbane e valutare l'estensione della sua efficacia sulla superficie. Questo rappresenta la base per poter formulare raccomandazioni ai potenziali utenti finali (comuni e strutture private come hotel o campeggi) e condurre un'analisi reale costi/benefici della tecnica stessa.

6.2 Smaltimento dei rifiuti

L'esperimento proposto non prevede la produzione di rifiuti nel sito sperimentale. L'unità di produzione di massa del CAA ha già organizzato procedure di smaltimento dei rifiuti in conformità con la normativa sanitaria nazionale per i residui organici degli insetti morti e per i residui di sangue e dieta utilizzati per alimentare gli adulti nelle colonie.

6.2.1 Tipologia e quantità di rifiuti prodotti

Non applicabile. Vedi paragrafo 6.2.

6.2.2 Possibili rischi

Non applicabile. Vedi paragrafo 6.2.

6.2.3 Descrizione della procedura di smaltimento pianificata

Non applicabile. Vedi paragrafo 6.2.

6.3 Piani di emergenza

6.3.1 Metodi e procedure per il controllo degli organismi in caso di diffusione inattesa

Le zanzare rilasciate nelle aree target possono essere controllate in qualsiasi momento semplicemente interrompendo il rilascio dei maschi sterili, che sopravviveranno in campo per un tempo limitato, già valutato in meno di una settimana come dimostrato nell'esperimento di Morcote (sezione 2.7). In caso di problemi, come il rischio di trasmissione di malattie, l'esperimento verrà immediatamente sospeso e saranno applicate le misure previste dal piano d'azione cantonale, includendo l'installazione di ovitrappole nelle aree di rilascio e buffer, la riduzione intensiva delle fonti larvali e il trattamento adulticida (Fouque et al. 2020).

6.3.2 Metodi di decontaminazione delle aree colpite

Nessun trasferimento genetico dai maschi sterili ad altre specie o all'ambiente è previsto utilizzando la tecnica SIT classica. Vedi paragrafo 5.2.

6.3.3 Metodi per lo smaltimento o il trattamento di piante, animali, suolo ecc. interessati dalla diffusione degli organismi

Con il metodo SIT classico non è previsto il trasferimento di geni dai maschi sterili ad altre specie o all'ambiente. Si veda il paragrafo 5.2.

6.3.4 Piani di protezione dell'uomo e degli animali, dell'ambiente e della diversità biologica in caso di effetti indesiderati

Come descritto nel paragrafo 5.1., poiché con il rilascio di maschi sterili vengono rilasciate in parte anche alcune femmine sterili, nel caso in cui vi sia una persona affetta da una malattia trasmissibile dalla zanzara tigre, l'esperimento verrebbe sospeso e si procederebbe con le misure di controllo previste a livello cantonale per evitare casi di trasmissione locale di malattie.

7 Determinazione e valutazione del rischio

7.1 Scopo e procedura

¹ *Lo scopo della determinazione del rischio è quello di determinare e valutare le conseguenze del caso reale di manipolazione di organismi nell'ambiente, per:*

- a. gli esseri umani, gli animali o l'ambiente, la diversità biologica e il suo uso sostenibile;*
- b. nel caso di organismi geneticamente modificati, la conservazione a lungo termine della produzione che non utilizza organismi geneticamente modificati.*

² *La valutazione del rischio deve valutare la sua giustificabilità.*

³ *La determinazione del rischio deve essere effettuata secondo criteri e metodi scientifici e deve basarsi su dati scientifici e tecnici disponibili, pubblicazioni scientifiche, risultati di calcoli e analisi dettagliate. La valutazione dei rischi per la loro giustificabilità deve essere presentata in modo fondato e comprensibile.*

I rischi legati agli obiettivi di protezione durante una campagna di rilascio di SIT sono stati identificati in tre grandi aree legate alla salute e all'ambiente: salute umana, disturbo per le persone e biodiversità.

L'obiettivo della salute umana potrebbe essere ulteriormente suddiviso in rischi più specifici, tra cui:

- Lavoratori di impianti di produzione/rilascio di SIT colpiti da problemi di salute come reazioni allergiche o irradiazioni nell'ambiente di produzione o durante le procedure di laboratorio, trasporto e rilascio;
- Mutazioni nei maschi irradiati che modificano la capacità vettoriale e il comportamento delle zanzare vettoriali;
- Sostituzione della nicchia con una specie vettoriale più competente;
- Compiacenza che porta a ridurre gli sforzi di controllo complementare dei vettori.

L'obiettivo di disturbo è legato a preoccupazioni più specifiche sul rischio di disturbo da puntura da parte di qualsiasi zanzara femmina rilasciata tramite SIT e sul disturbo percepito da maschi sterili non pungenti. L'obiettivo della biodiversità è legato a preoccupazioni più specifiche sul rischio di sostituzione della nicchia che influisce sull'equilibrio ecologico e sulla perdita di tutte o parte delle specie vettoriali endemiche o naturalizzate con un ruolo ecologico (OMS, IAEA 2019). In questo caso, tuttavia, riteniamo che, essendo *Ae. albopictus* una specie esotica invasiva, la sua riduzione non danneggerebbe una nicchia ecologica di interesse, ma anzi tenderebbe a ripristinare una situazione ecologica simile a quella precedente all'arrivo della zanzara tigre. È anche vero che sul territorio sono presenti altre specie invasive, ovvero *Ae. japonicus* e *Ae. koreicus*, che sfruttano siti di riproduzione simili a quelli della zanzara tigre, per cui la riduzione della zanzara tigre potrebbe

favorire queste specie. Tuttavia, va sottolineato che queste specie non presentano particolari rischi vettoriali di trasmissione di malattie o di disturbo pubblico.

7.2 Identificazione dei pericoli e determinazione del rischio

7.2.1 Identificazione dei pericoli

¹ Deve essere determinato il potenziale degli organismi, quando vengono manipolati nell'ambiente, di compromettere i due obiettivi di protezione di cui al numero 1, paragrafo 1. In particolare, devono essere presi in considerazione i seguenti elementi:

- a. le proprietà degli organismi
- b. l'esperienza nell'uso degli organismi
- c. le modifiche genetiche nel caso di organismi geneticamente modificati;
- d. le interazioni con l'ambiente;
- e. i percorsi abituali di trasporto e lavorazione di questi organismi.

² Tale determinazione si basa su dettagli in conformità con gli artt. 19, 20 o 21, o 28, 29 o 30.

Grazie alla lunga storia del SIT come strumento di controllo degli insetti nocivi, molti aspetti di questa tecnologia sono relativamente noti. Si tratta di uno strumento di controllo dei parassiti specifico per l'intera area, i cui rischi potenziali per le specie non bersaglio e gli ecosistemi sono in genere significativamente inferiori a quelli associati a tecnologie meno mirate, come le applicazioni aeree di adulticidi convenzionali ad ampio spettro.

I maschi sterili da rilasciare nelle aree di studio saranno allevati e sterilizzati presso il CAA in Italia, fuori dalla Svizzera, in strutture specializzate con adeguati standard di protezione del personale durante le procedure di allevamento e sterilizzazione degli insetti (secondo la SOP allegata). I maschi sterili saranno trasportati, allo stadio di adulti, in apposite scatole a doppio contenimento di sicurezza (secondo le procedure internazionali per il trasporto di materiale biologico UN 3373 categoria B) e refrigerati per preservarne la qualità durante il trasporto.

I maschi sterili prodotti possono contenere una piccola percentuale di femmine residue (<1%), anch'esse sterili, che verranno rilasciate in campo insieme ai maschi. Anche se queste femmine mantengono la loro attività trofica, sono completamente sterili alla dose di radiazioni ricevuta e gli studi scientifici sulle specie di *Aedes* mostrano una minore incidenza di alimentazione con sangue e nessuna produzione di prole (Bond et al. 2019, Aldridge et al. 2020). La loro capacità vettoriale nei confronti di importanti virus introdotti accidentalmente nelle aree dell'Europa meridionale (chikungunya e dengue) è ancora presente, tuttavia nelle aree di studio selezionate la specie invasiva *Ae. albopictus* non è mai stata riconosciuta come vettore per la trasmissione di patogeni indigeni o introdotti nella popolazione (cfr. sezione 5.1). Dai dati preliminari dell'esperimento di Morcote, che sarà condotto in modo più esteso con questo nuovo esperimento, sembra che la tecnica SIT induca anche una riduzione dell'età delle femmine oltre alla loro diminuzione numerica, contribuendo così alla diminuzione della trasmissione di importanti patogeni con i virus dengue e chikungunya.

La tecnica dell'insetto sterile rappresenta uno strumento da utilizzare in progetti di lotta integrata su larga scala senza sospendere le normali attività di controllo e sorveglianza già attivate contro questo insetto nelle aree di studio individuate.

I maschi sterili mantengono caratteristiche comportamentali identiche ai maschi fertili conspecifici, in modo da potersi disperdere, sopravvivere e competere con successo con la popolazione selvatica nelle aree di studio selezionate. Come i maschi selvatici, anche i maschi sterili formano sciami di accoppiamento in prossimità di aree verdi e di ospiti femminili in attesa dell'arrivo di femmine conspecifiche. Questo comportamento potrebbe causare un fastidio temporaneo alla popolazione, ma il rilascio di maschi sterili effettuato in molti Paesi, in passato, non ha portato ad alcuna criticità legata al comportamento dei maschi rilasciati. Questo rischio può essere gestito attraverso un'adeguata comunicazione alle popolazioni locali. Nell'esperimento condotto nel comune di Morcote, non ci sono state lamentele di alcun tipo sul comportamento dei maschi o un rifiuto della tecnica utilizzata. Al contrario, le persone hanno espresso una sensazione di riduzione dei morsi rispetto agli anni precedenti all'uso del SIT, e si sono dichiarate soddisfatte, così come il comune stesso, della tecnica in generale.

I maschi sterili rilasciati sono prodotti a partire da ceppi raccolti in campo nelle stesse aree sperimentali e la sterilità indotta è generata attraverso l'uso di dosi calibrate (30 o 35 Gy, rateo di dose 2-3 Gy/min) di radiazioni ionizzanti in grado di indurre mutazioni letali dominanti casuali che portano alla quasi completa sterilità degli insetti rilasciati (> 99%). La sterilità è indotta attraverso metodi classici di mutagenesi che hanno una lunga storia di applicazioni sicure in progetti SIT per molti parassiti di interesse agronomico e veterinario negli ultimi 60 anni di applicazioni in campo. I maschi radio-sterilizzati sono considerati organismi benefici per il controllo genetico biologico degli insetti nocivi (FAO 2005) e il SIT è l'unica strategia di controllo genetico pienamente approvata e applicata in campo con enormi benefici socio-economici e ambientali diretti. La Corte di giustizia dell'Unione europea (Comunicato stampa n. 111/18, Lussemburgo, 25 luglio 2018; sentenza nella causa C-528/16) ha dichiarato che gli organismi ottenuti con tecniche di mutagenesi che sono stati convenzionalmente utilizzati in una serie di applicazioni e hanno una lunga storia di sicurezza sono esenti dagli obblighi stabiliti dalla direttiva sugli OGM sull'emissione nell'ambiente di organismi geneticamente modificati (direttiva 2001/18/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 12 marzo 2001; direttiva 90/220/CEE del Consiglio - GU L 106, pag. 1) (cfr. sezione 2.8.3). Inoltre, in un nostro recente studio (Ravasi et al. 2024) "La presenza di numerosi SNP suggerisce che l'irradiazione dei maschi di zanzara induce variazioni genetiche più ampie rispetto alle sole mutazioni letali dominanti. I geni mutati non sembrano influenzare i processi biologici, tranne in un caso. Solo in quattro casi abbiamo riscontrato processi biologici significativamente influenzati da geni mutati che molto probabilmente sono stati trasmessi alla progenie maschile. I nostri risultati suggeriscono che le mutazioni casuali indotte da una dose sub-sterilizzante di raggi gamma nelle pupe maschili di *Ae. albopictus* e trasmesse alla progenie maschile non influenzano i processi biologici potenzialmente dannosi".

7.2.2. Determinazione del rischio

¹ Il rischio è determinato dall'entità del possibile danno agli obiettivi di protezione indicati al numero 1, paragrafo 1, e dalla probabilità che tale danno si verifichi.

² Per proteggere gli esseri umani, gli animali e l'ambiente, nonché la diversità biologica e il suo uso sostenibile, devono essere esaminati almeno i seguenti scenari di danno:

- a. *Pericolo per la salute umana causato dagli organismi o dai loro prodotti genici: devono essere indicati il tipo (allergenicità, patogenicità, tossicità, ecc.) e la gravità dei possibili effetti;*
- b. *Insedimento e diffusione degli organismi: devono essere indicate le vie di fuga dal sito di utilizzo, le condizioni di insediamento nell'ambiente, lo sviluppo della densità di popolazione, l'entità dello spostamento di altri organismi (singoli individui, intere popolazioni, intere specie) e le specie interessate (organismi coltivati o selvatici, specie in pericolo o utili);*
- c. *Trasferimento genico: devono essere indicate le vie di trasmissione del materiale genetico, i meccanismi di crossing out o ricombinazione e i possibili partner di incrocio, la fertilità della prole e i vantaggi selettivi;*
- d. *Deterioramento di altri organismi (organismi non bersaglio): devono essere indicati il tipo di effetti diretti (ad esempio attraverso prodotti genici tossici) o indiretti (ad esempio attraverso un'alterazione della coltivazione del suolo), la durata (acuta, cronica) e la gravità degli effetti;*
- e. *Pericolo per i cicli della materia: devono essere indicati il tipo di alterazione degli inquinanti e dei nutrienti nel suolo o nell'acqua e il grado di alterazione, da valutare in termini di perturbazione di importanti funzioni dell'ecosistema (fissazione dell'azoto, respirazione del suolo, ecc.);*
- f. *sviluppo di resistenza: devono essere indicati il tipo di resistenza sviluppata, le conseguenze per le strategie di controllo e gli impatti ecologici di strategie di controllo alternative.*

³ Nel caso di organismi geneticamente modificati, per proteggere le produzioni che non utilizzano organismi geneticamente modificati devono essere esaminati almeno i seguenti scenari di danno:

- a. *Contaminazione di aree di produzione attraverso il trasferimento verticale di geni: deve essere indicato il trasferimento di geni attraverso la ricombinazione sessuale (ad esempio, i meccanismi di crossing-out, le distanze di volo del polline, i possibili partner di incrocio all'interno delle specie coltivate o utilizzate, la fertilità della prole e i loro vantaggi selettivi);*
- b. *Contaminazione di prodotti privi di organismi geneticamente modificati attraverso l'uso di attrezzature: devono essere indicati l'uso di attrezzature per il rilascio e la lavorazione degli organismi (ad esempio, macchine per la semina o la raccolta), l'uso abituale (ad esempio, macchine proprie o prese in prestito da cooperative) e le procedure di pulizia;*
- c. *Contaminazione di prodotti privi di organismi geneticamente modificati attraverso perdite non intenzionali: devono essere indicate le possibili vie di fuga (ad esempio, seconda crescita, deriva di prodotti fitosanitari, perdite durante il trasporto), nonché l'insediamento e la diffusione degli organismi (ad esempio, condizioni di insediamento nell'ambiente, sviluppo della densità di popolazione);*

- d. *Contaminazione di prodotti privi di organismi geneticamente modificati durante la lavorazione: devono essere indicati i percorsi di lavorazione abituali, le fasi e i luoghi in cui potrebbero verificarsi miscele e ambiguità.*

⁴ *La probabilità che si verifichino danni durante la manipolazione nell'ambiente deve essere determinata per tutti gli scenari di danno.*

⁵ *Le informazioni devono essere quantificate per quanto possibile.*

Il rilascio periodico di maschi sterili non pungenti a dosi diverse non contribuisce in alcun modo all'aumento del rischio sanitario legato alla possibile circolazione di agenti patogeni o all'aumento dell'attività trofica di questi organismi. Il rischio associato al rilascio accidentale di femmine sterili mordaci è mitigato dalla progressiva e concomitante riduzione della densità di popolazione prodotta dall'aumento della sterilità indotta nella popolazione selvatica. Inoltre, l'eventuale rilascio e distribuzione accidentale sul campo di maschi e femmine fertili è minima, poiché gli impianti di produzione di massa, sessaggio e sterilizzazione sono situati lontano dalle aree di rilascio e tutti i lotti di maschi sterili inviati in Svizzera seguono procedure di controllo della qualità volte a determinare la percentuale di femmine contaminanti presenti, il numero e la sterilità dei lotti di maschi prodotti. Qualora si verificasse in natura un rilascio accidentale di insetti maschi o femmine fertili, non si genererebbe alcun rischio per l'ambiente, poiché il patrimonio genetico di questi insetti è identico a quello degli individui già presenti nelle aree di rilascio. Inoltre, il rilascio di insetti fertili o sterili non influirebbe sull'integrità genetica di altre specie non bersaglio, ma altererebbe semplicemente il tasso di puntura di *Ae. albopictus* limitatamente al periodo di presenza sul campo. Secondo il Morcote l'aspettativa di vita media era di 2,18 giorni (sezione 2.7). Tuttavia, va sottolineato che la tecnica SIT è una metodologia autolimitante in cui gli insetti rilasciati inducono un certo grado di sterilità e poi scompaiono dall'ambiente senza lasciare un impatto genetico permanente sulla specie bersaglio e senza alcun effetto sulle specie non bersaglio.

Come indicato in precedenza, la tecnica SIT vanta un lungo record di assenza di fenomeni di resistenza. L'unico caso ipotetico di resistenza riguarda la selezione accidentale in laboratorio di ceppi altamente adattati alle condizioni di allevamento artificiale e incapaci, una volta in campo, di competere efficacemente per l'accoppiamento con le femmine selvatiche. Tuttavia, è possibile adottare strategie di gestione della resistenza nel sito di produzione per invertire con successo questa condizione avversa (McInnis 1996, Whitten e Mahon 2005, Alphey et al. 2010).

7.3 Valutazione e gestione del rischio

7.3.1 Valutazione delle misure di sicurezza

¹ *Sulla base della determinazione del rischio, occorre determinare le possibili misure di sicurezza e valutarne l'efficacia in termini di riduzione del rischio.*

² *Se sono disponibili più misure di sicurezza equivalenti, la scelta della misura proposta deve essere giustificata.*

I maschi sterili ricevuti in Svizzera in appositi contenitori isolati saranno rilasciati dagli operatori SUPSI in campo in stazioni di rilascio adeguatamente distribuite nelle aree di sperimentazione. Gli operatori durante la manipolazione degli insetti devono adottare un abbigliamento adeguato per

ridurre al minimo i possibili morsi delle femmine rilasciate accidentalmente. Gli operatori in campo devono comunque adottare gli stessi dispositivi di protezione individuale anche durante le procedure standard di sorveglianza e monitoraggio di questa specie nelle aree di rilascio e nelle aree di controllo non trattate.

I maschi sterili allevati nel sito di produzione (CAA, Italia) a partire da materiale raccolto in campo in Svizzera saranno sottoposti a procedure di controllo di qualità volte a limitare la presenza di femmine a una soglia inferiore all'1%. La sterilizzazione degli insetti irradiati con radiazioni ionizzanti sarà effettuata da personale specializzato presso centri sanitari nazionali in grado di garantire le procedure di sicurezza e la corretta dosimetria di irraggiamento degli insetti trattati. Per mantenere un corretto dimorfismo dei ceppi allevati e per limitare i fenomeni di selezione alle condizioni artificiali, il ceppo può essere periodicamente incrociato con materiale selvatico proveniente dal campo. Il mantenimento della variabilità genetica garantisce un migliore sessaggio dei maschi e favorisce il mantenimento della competitività in campo (McInnis 1996, Whitten e Mahon 2005). Gli insetti rilasciati sopravvivono in campo meno di una settimana e possono essere contenuti attraverso le normali strategie di controllo dei vettori insieme a trappole letali di massa o ovitrappole. Inoltre, gli esperimenti di marcatura-rilascio-ricattura condotti a Morcote dimostrano che i maschi non volano in media per più di 100 metri, quindi la loro natura impedisce la loro presenza in aree lontane dall'esperimento (sezione 2.7). In casi estremi, le zone barriera possono essere prodotte da una combinazione di riduzione intensiva delle fonti, larvicidi e adulticidi (Oliva et al. 2021; Fouque et al. 2020).

I maschi rilasciati saranno regolarmente monitorati sul campo per misurarne la densità, la fertilità, la competitività, la dispersione e la sopravvivenza. Sebbene non esista un metodo efficace per distinguere i maschi sterili da quelli selvatici, l'impatto dei maschi sterili rilasciati può essere misurato misurando la fertilità e la densità delle uova sul campo. Due volte al mese effettueremo anche un monitoraggio giornaliero utilizzando le trappole sentinella BG dove vengono effettuati i rilasci e in un'area di controllo non trattata, per confrontare il rapporto M/F nei due ambienti e dedurre il rapporto S/W e il tasso di sopravvivenza giornaliera dei maschi sterili (si veda anche la sezione 3.1. "Stima della densità dei maschi selvatici"). "Stima della densità dei maschi selvatici e sterili" della domanda).

Il monitoraggio sarà utilizzato anche per valutare se il declino della popolazione bersaglio porterà ad un aumento della presenza e della densità di diverse specie di zanzare autoctone e invasive nelle aree di studio.

Il SIT si inserisce molto bene in un programma di eliminazione o eradicazione di una malattia trasmessa da vettori, poiché è uno dei pochi strumenti di controllo dei vettori con una comprovata esperienza nell'eliminazione dei parassiti su vaste aree, anche su scala continentale. L'eliminazione o la soppressione di un vettore obbligato elimina o contiene la trasmissione sotto la soglia di rischio sanitario (Alphey et al. 2010).

7.3.2 Valutazione del rischio

¹ Il rischio della manipolazione prevista nell'ambiente deve essere esaminato per verificarne la giustificabilità, sulla base del tipo, della gravità e della probabilità dei possibili danni e tenendo conto delle misure di sicurezza previste.

² *Devono essere presentate le ragioni per cui il rischio determinato al numero 2 è giustificabile per gli obiettivi di protezione indicati nella sezione 1, paragrafo 1.*

³ *Nel valutare la giustificabilità, si deve tenere conto di quanto segue:*

- a. *il principio di precauzione in conformità con l'articolo 2 GTA e l'articolo 1, paragrafo 2 EPA;*
- b. *l'efficacia delle misure di sicurezza determinate in base al punto 3.1;*
- c. *altri rischi ai sensi dell'articolo 6, paragrafo 4, dell'ATR e dell'articolo 8 dell'APE;*
- d. *l'eventuale reversibilità del danno;*
- e. *che quanto maggiore è l'entità del possibile danno, tanto minore deve essere la probabilità che esso si verifichi.*

Nessun altro metodo di controllo delle zanzare attualmente disponibile è in grado di ottenere un controllo efficace e sostenibile delle specie vettoriali di zanzare *Aedes*. Il metodo SIT proposto non presenta rischi per la salute umana né per l'ambiente, mentre i metodi attuali, basati principalmente sugli insetticidi, hanno impatti rilevanti sull'ambiente e sulla salute pubblica. La resistenza agli insetticidi sta aumentando, mentre non è prevista alcuna resistenza nel SIT. Questa tecnica è ecologica, specificamente mirata, spazialmente limitata e non persistente, caratteristiche che possono aiutare a proteggere la salute pubblica, la fauna non bersaglio e l'ambiente (Oliva et al. 2021). La matrice dei rischi associata illustra la probabilità e le conseguenze dei rischi descritti nel testo. A ogni danno potenziale viene assegnato un valore per la probabilità e la conseguenza. La tabella che segue utilizza definizioni soggettive per i punteggi di probabilità e conseguenza in base alla situazione ecologica ed epidemiologica relativa alla presenza di vettori di zanzare invasive antropofili nell'area di studio (Tabella 1).

Come descritto nella Tabella 1 e nel presente documento, i risultati illustrati relativi agli obiettivi di protezione possono informare il processo decisionale dei regolatori sull'elevata accettabilità dei rischi descritti e sui loro rischi improbabili o moderati con bassi livelli di conseguenze. Mentre i rischi per la salute e l'ambiente di questa tecnica sono estremamente rari e non hanno un impatto permanente sulla popolazione e sugli ecosistemi coinvolti, il rischio legato alle attività di comunicazione è considerato uno dei rischi più critici per l'accettabilità del programma SIT per la popolazione umana. Lo sviluppo del piano di comunicazione del rischio sarà attuato al fine di mantenere una continua informazione e partecipazione del pubblico e dei principali stakeholder sulle attività e sui risultati raggiunti in questo progetto. L'istituzione di un forum consultivo con le parti interessate a livello locale sarà un'utile strategia di gestione delle relazioni e fornirà una via per esprimere le proprie opinioni. I gruppi di stakeholder rappresentati includeranno altri professionisti della disinfestazione, scienziati esperti (entomologi, ecologi, epidemiologi, sociologi, matematici), gruppi religiosi, associazioni ambientaliste, politici locali, professionisti e servizi sanitari locali e altre parti interessate come insegnanti di scuola o gruppi comunitari. Incoraggiare le interazioni bidirezionali con questi gruppi garantirà un approccio legittimo. Tutti gli attori locali chiave devono avere informazioni e comprensione accurate, in modo che la divulgazione pubblica attraverso questi canali di fiducia sia corretta e utile (Oliva et al. 2021). La comunicazione del rischio dipende da un'accurata descrizione delle attività SIT pianificate e di come queste si relazionano con le preoccupazioni di rischio che possono essere state sollevate dalle varie parti interessate. Lo sviluppo di un piano di comunicazione includerà il monitoraggio e la valutazione delle attività di

comunicazione. A livello pratico, la SUPSI ha già stabilito una stretta rete di comunicazione con i Comuni coinvolti nel sistema di sorveglianza della zanzara tigre. La comunicazione avviene tra Municipi, uffici tecnici e operatori comunali. A livello pratico, la SUPSI ha già stabilito una stretta rete di comunicazione con i Comuni coinvolti nel sistema di sorveglianza della zanzara tigre. La comunicazione avviene tra Municipi, uffici tecnici e operatori comunali. Inoltre, ogni anno vengono organizzate serate informative per la popolazione su richiesta dei Comuni. Ogni anno la SUPSI realizza anche un'importante campagna attraverso i media per informare i cittadini sui risultati del suo lavoro con la zanzara tigre e per stimolarli ad adottare misure di contenimento dell'insetto sui terreni privati. Nel caso di questa sperimentazione, oltre a tenere aggiornati i Comuni in cui verranno rilasciati i maschi sterili, verranno organizzate serate informative per la popolazione prima dell'inizio dell'esperimento e al termine dello stesso, e verranno lasciati opuscoli informativi presso gli uffici comunali. La SUPSI dispone inoltre di una pagina web dedicata ai cittadini(www.supsi.ch/go/zanzare) in cui vengono descritte le sue attività, compresa la tecnica SIT, e di una e-mail dedicata ai cittadini zanzaratigre@supsi.ch sempre attiva. È inoltre previsto un comunicato stampa generale prima dell'inizio e alla fine della sperimentazione.

LIKELIHOOD LEVELS	CONSEQUENCE LEVELS				
	1 VERY LOW	2 LOW	3 MODERATE	4 HIGH	5 VERY HIGH
1 VERY UNLIKELY	<ul style="list-style-type: none"> • Eradication of target <i>Aedes</i> population leading to ecosystem imbalance [1/1] • Unintentional release of sterile females leading to disease transmission [1/1] • Niche replacement affecting environmental balance [1/1] 	<ul style="list-style-type: none"> • Under-irradiated females increase vectorial competence [1/2] • Niche replacement leading to invasive vectors [1/2] 			
2 UNLIKELY	<ul style="list-style-type: none"> • Exposure to females in the field leading to operator nuisance during release, surveillance and monitoring procedures [2/1] 	<ul style="list-style-type: none"> • Unintentional release of sterile females leading to nuisance [2/2] 	<ul style="list-style-type: none"> • Local opposition to the trials due to inappropriate communication plan for acceptability [2/3] 		
3 MODERATE LIKELY		<ul style="list-style-type: none"> • Exposure to large numbers of sterile male mosquitoes leading to nuisance [3/2] 	<ul style="list-style-type: none"> • Perception of success leading to complacent behaviour affecting vector control challenge [3/3] 		
4 LIKELY					
5 VERY LIKELY					

Tabella 3. Matrice di valutazione dei rischi sanitari/ambientali per le piste di rilascio del SIT contro *Ae. albopictus* in Svizzera. L'intervallo dei valori [intervalli di valori di probabilità/conseguenza] è indicato dopo ogni danno elencato (modificato da OMS/IAEA 2019).

Eleonora Flacio

Dr Eleonora Flacio

Resp. Vector ecology sector / Institute of Microbiology / DACD / SUPSI

Allegati:

- A1. Linee guida CAA per la produzione di maschi sterili.
- A2. Breve rapporto SIT (2022-2024). Nelle prossime settimane sarà redatto un rapporto contenente un'analisi statistica più approfondita che sarà inviato all'UFAM.
- A3. Rapporto per la CFSB: Richiesta di finanziamento per il miglioramento della raccolta e dell'analisi dei dati nell'ambito del progetto di progetto di tecnica del maschio sterile su *Aedes albopictus* in Canton Ticino
- A4. Articolo Bouyer 2024: Stato attuale della tecnica dell'insetto sterile per la soppressione delle popolazioni di zanzare su scala globale
- A5. Bouyer 2024: materiale supplementare (Tabella 1)
- A6. Accettazioni comunali per i rilasci

Bibliografia

- Aldridge RL, Kline J, Coburn JM, Britch SC, Boardman L, Hahn DA, Chen C, Linthicum KJ. 2020. Gamma-Irradiation Reduces Survivorship, Feeding Behavior, and Oviposition of Female *Aedes aegypti*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 36 (3): 152–160.
- Alphey L, Benedict M, Bellini R, Clark GG, Dame DA, Service MW, Dobson SL. 2010. Sterile-insect methods for control of mosquito-borne diseases: an analysis. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 10(3):295-311.
- Balestrino F, Bouyer J, Vreysen M, Veronesi E. 2021. Investigating vector competence for chikungunya and dengue viruses among *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes after irradiation. In preparation.
- Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Madon M, Dahl C, Kaiser A. 2010. *Mosquitoes and Their Control*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Bellini R, Albieri A, Balestrino F, Carrieri M, Porretta D, Urbanelli S, Calvitti M, Moretti R, Maini S. 2010. Dispersal and survival of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) males in Italian urban areas and significance for sterile insect technique application. *J. Med. Entomol.* 47(6):1082-1091.
- Bellini, R., Medici, A., Puggioli, A., Balestrino, F., and Carrieri, M., 2013. Pilot field trials with *Aedes albopictus* irradiated sterile males in Italian urban areas. *J Med Entomol.* 50(2): p. 317-25. DOI: 10.1603/me12048.

Bellini R, Carrieri M, Balestrino F, Puggioli A, Malfacini M, Bouyer J. 2021. Field Competitiveness of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Irradiated Males in Pilot Sterile Insect Technique Trials in Northern Italy. *J. Med. Entomol.* 12;58(2):807-813.

Bond JG, Osorio AR, Avila N, Gómez-Simuta Y, Marina CF, Fernández-Salas I, Liedo P, Dor A, Carvalho DO, Bourtzis K, Williams T. 2019. Optimization of irradiation dose to *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* in a sterile insect technique program. *PLoS One* 14: e0212520.

Bouyer, J., Yamada, H., Pereira, R., Bourtzis, K., and Vreysen, M.J., 2020. Phased conditional approach for mosquito management using sterile insect technique. *Trends in Parasitology.* 36(4): p. 325-336.

Bouyer J. 2024. Current status of the sterile insect technique for the suppression of mosquito populations on a global scale. *Infectious Diseases of Poverty,* 13:68

Carrieri M, Angelini P, Venturelli C, Maccagnani B, Bellini R. 2011. *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population size survey in 2007 Chikungunya outbreak area in Italy. I: Characterization of breeding sites and evaluation of sampling methodologies. *J. Med. Entomol.* 48:1214–1225.

Cunningham CA, Aldridge RL, Kline J, Bibbs CS, Linthicum KJ, Xue RD. 2020. Effects of radiation on blood-feeding activity of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Vector Ecol* 45:140–141.

Dyck VA, Hendrichs J, Robinson AS. 2005. *Sterile Insect Technique. Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management,* Springer, Dordrecht, The Netherlands.

ECR European Court Reports, 111/18 (2018). *Confédération paysanne and Others v. Premier ministre and Ministre de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt* Case no. C-528/16.

FAO. 2005. *ISPM No. 3: Guidelines for the Export, Shipment, Import and Release of Biological Control Agents and Other Beneficial Organisms,* 2005, FAO, Rome, Italy.

Fouque F, Guidi V, Lazzaro M, Ravasi D, Martinetti-Lucchini G, Merlani G, Tonolla M, Flacio E. 2020. Emerging *Aedes*-Borne Infections in Southern Switzerland: Preparedness Planning for Surveillance and Intervention. *Travel Medicine and Infectious Disease* 37: 101748.

Hawley WA. 1988. The biology of *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc.* 1: 2–39.

McInnis DO, Lance DR, Jackson CG. 1996. Behavioral resistance to the sterile insect technique by Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Hawaii. *Ann Entomol Soc Am.* 89:739–44.

Valutazione dell'efficacia della tecnica del maschio sterile contro *Aedes albopictus* (zanzara tigre asiatica) in diversi ambienti urbani come misura di controllo integrato nell'ambito del programma Join TDR OMS/IAEA.

Oliva CF, Benedict MQ, Collins CM, Baldet T, Bellini R, Bossin H, Bouyer J, Corbel V, Facchinelli L, Fouque F. 2021. Sterile Insect Technique (SIT) against *Aedes* Species Mosquitoes: A Roadmap and Good Practice Framework for Designing, Implementing and Evaluating Pilot Field Trials. *Insects* 2021, 12, 191.

Ravasi D, Parrondo Monton D, Guidi V, Flacio E. 2020. Evaluation of the Public Health Risk for Autochthonous Transmission of Mosquito-Borne Viruses in Southern Switzerland. *Med. Vet. Entomol.* 34 (2): 244–50.

Ravasi D, Topalis P, Puggioli A, Leo C, Flacio E, Papagiannakis G, Balestrino B, Martelli M, Bellini, R. 2024. Random mutations induced by a sub-sterilizing dose of gamma ray on *Aedes albopictus* male pupae and transmission to progeny. *Acta Tropica*, Vol. 256, 107271,

Shetty V, Shetty NJ, Harini BP, Ananthanarayana SR, Jha SK, Chaubey RC. 2016. Effect of gamma radiation on life history traits of *Aedes aegypti* (L.). *Parasite Epidemiol. Control.* 1(2): 26-35.

Tur, C., Almenar, D., Zacarés, M., Benlloch-Navarro, S., Pla, I., and Dalmau, V., 2023. Suppression Trial through an Integrated Vector Management of *Aedes albopictus* (Skuse) Based on the Sterile Insect Technique in a Non-Isolated Area in Spain. *Insects.* 14(8): p. 688.

Vavassori L, Saddler A, Müller P. 2019. Active dispersal of *Aedes albopictus*: a mark-release-recapture study using self-marking units. *Parasit. Vectors* 12, 583.

Whitten M, Mahon R. Misconceptions and Constraints. In: Dyck VA, Hendrichs J, Robinson AS. (eds.). *Sterile Insect Technique*. Springer: The Netherlands, 2005, 601–626.

WHO / IAEA. Guidance framework for testing the sterile insect technique as a vector control tool against *Aedes*-borne diseases. 2020. Geneva: World Health Organization and the International Atomic Energy Agency; Framework for health and environmental risks assessment. Ch. 02: 31-47.