

**ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ**

**Procedura per il controllo  
dei corpi estranei nei prodotti medicinali  
Riflessioni a due anni dalla sua applicazione**

A cura di  
Anna Farina (a), Luigi Paoletti (b) e Raffaele Lecce (a)

*(a) Laboratorio di Chimica del Farmaco  
(b) Laboratorio di Ultrastrutture*

ISSN 1123-3117

**Rapporti ISTISAN**

**99/2**

Istituto Superiore di Sanità

**Procedura per il controllo dei corpi estranei nei prodotti medicinali. Riflessioni a due anni dalla sua applicazione.**

A cura di Anna Farina, Luigi Paoletti e Raffaele Lecce

1999, 20 p. Rapporti ISTISAN 99/2

I risultati delle indagini effettuate in attuazione delle "procedure per il controllo dei corpi estranei in prodotti medicinali" (Circolare del Ministero della Sanità 26 febbraio 1997, n. 4) hanno messo in evidenza, a due anni circa dalla emanazione della circolare, l'opportunità di una revisione delle procedure stesse. Infatti, la natura dei "corpi estranei" identificati in circa novanta casi esaminati suggerisce che l'immediato coinvolgimento dell'autorità ispettiva permetterebbe una più pronta e meno articolata definizione delle singole segnalazioni.

*Parole chiave:* Corpi estranei, Farmacovigilanza, Medicamenti

Istituto Superiore di Sanità

**Procedure for dealing with defect reports concerning foreign body contamination of medicinal products.**

Edited by Anna Farina, Luigi Paoletti and Raffaele Lecce

1999, 20 p. Rapporti ISTISAN 99/2 (in Italian)

A procedure for dealing with defect reports concerning foreign body contamination of medicinal products is in force, at national level (according to the Italian "Circular" of the Ministry of Health, February 26, 1997, n. 4). The activity of the past two years points out the opportunity of a possible revision of the procedure itself. Indeed the nature of the foreign bodies identified in the examined complaint samples (about 90) suggests that the prompt and punctual involvement of the inspective authority might simplify and speed up the "definition" of each specific incident.

*Key words:* Foreign bodies, Medicinal products, Pharmaco-surveillance

Gli autori desiderano ringraziare per la collaborazione tecnica i signori Domenico Batisti e Cristina Quattrini.

## INDICE

Introduzione .....	1
Segnalazioni pervenute .....	2
Indagini effettuate .....	2
Pareri espressi .....	3
Conclusioni .....	4
Allegato n. 1: Circolare 26 febbraio 1997, n. 4.....	5
Allegato n. 2: Segnalazioni pervenute. Indagini effettuate .....	7
Allegato n. 3: Il ruolo della microscopia elettronica analitica nella identificazione dei corpi estranei in prodotti medicinali .....	14

### *Introduzione*

Nell'ambito dell'attività di farmacovigilanza ed al fine di "definire una linea guida per la gestione operativa" delle segnalazioni relative al rinvenimento di corpi estranei in prodotti medicinali è stata emanata nel marzo 1997 una circolare ministeriale (vedi allegato n. 1) relativa alle procedure per il controllo dei corpi estranei stessi. La conoscenza della esatta natura della "anomalia" segnalata, anomalia che come tale costituisce non solo un indice di rischio per il paziente ma una chiara evidenza di un non adeguato rispetto, da parte del produttore, delle norme di buona fabbricazione, è infatti ritenuta una informazione di primaria importanza per identificare le eventuali cause che nel processo produttivo hanno determinato il verificarsi dell'anomalia; permettere all'Autorità competente la definizione delle misure da adottare a seguito dell'inconveniente verificatosi.

Una valutazione critica dei risultati delle indagini analitiche effettuate sui campioni pervenuti durante i primi due anni di applicazione della procedura, delle misure cautelative che tali risultati hanno permesso di proporre all'Autorità ispettiva, può fornire elementi utili per un processo di ottimizzazione della procedura in atto.

### **Segnalazioni pervenute**

Le segnalazioni pervenute all'I S S dall'entrata in vigore della disposizione ministeriale al 20 ottobre 1998 sono state n. 104; per 9 di queste segnalazioni non è stato ricevuto il campione oggetto della segnalazione mentre in 8 casi non è stata confermata la presenza di corpi estranei nei campioni ricevuti.

Gli 87 casi sottoposti ad accertamenti sono elencati nell'allegato n. 2; per ciascuno di essi è indicato

- il tipo di contenitore o forma farmaceutica finita (fiale, flaconi, fiale-siringhe, ecc.);
- la "condizione" del campione ricevuto (confezione integra, confezione aperta, confezione aperta per procedere alla ricostituzione del prodotto finale, ecc.);
- l'approccio sperimentale utilizzato per la identificazione del corpo estraneo;
- la natura accertata o ipotizzata del "corpo estraneo";
- i provvedimenti suggeriti all'Autorità competente nei confronti del lotto di appartenenza del campione oggetto della segnalazione e nei confronti della Ditta produttrice.

### **Indagini effettuate**

Gli approcci sperimentali utilizzati per l'identificazione dei corpi estranei sono stati:

- osservazione visiva del campione;
- adeguate tecniche analitiche compresa la microscopia elettronica analitica (vedi allegato n. 3);
- metodi microbiologici, se del caso.

I risultati ottenuti e descritti nell'allegato n. 2 permettono di evidenziare che

- la "forma farmaceutica" che ha dato luogo ad un maggior numero di segnalazioni (35%) è costituita da flaconi con volume compreso tra 100 e 500 ml; seguono nell'ordine le fiale (21%), i flaconcini (14%), le fiale-siringhe (7%), le fiale-siringhe contenenti solvente per ricostituzione (6%) ed infine le compresse (2%); il rimanente 15% è costituito da "medical devices" diversi;
- circa il 40% dei corpi estranei viene "notato" dall'operatore sanitario o dal paziente durante le operazioni di preparazione del medicamento per la sua somministrazione ovvero quando al contenitore è stato tolto il sigillo di chiusura ermetica o quando il contenitore è stato aperto;
- i corpi estranei possono essere suddivisi in due categorie:
  - a) corpi estranei la cui natura è immediatamente identificabile con l'esame visivo (insetti, frammenti di vetro, capelli, ecc.);
  - b) corpi estranei identificabili a vista solo per la loro forma e colore.

E' rilevante l'esame quali-quantitativo dettagliato dei corpi estranei rinvenuti.

Infatti emerge che il 32% circa delle segnalazioni pervenute riguarda "corpi estranei" la cui identificazione avviene con un semplice esame visivo (categoria a).

Diversa è invece la situazione per la categoria b nella quale, per comodità descrittiva, possiamo distinguere

- corpi estranei veri e propri,

- “corpi estranei” derivanti da processi di inquinamento microbiologico anche a seguito di imperfezioni del contenitore.

Per i “corpi estranei veri e propri” è sempre necessario procedere alla loro separazione dalla fase costituente il medicamento e procedere, mediante le più appropriate metodologie analitiche, alla loro identificazione che in diversi casi non è fattibile; infatti a volte le informazioni ottenibili riguardano solamente

- la definizione della forma,
- la caratterizzazione di alcune proprietà fisiche come il colore,
- la identificazione degli elementi chimici costituenti la fase analizzata.

I corpi estranei appartenenti alla categoria b costituiscono il 68% circa delle segnalazioni pervenute; tale percentuale è suddivisa, per contributo singolo, come segue:

- 36% corpi estranei non identificabili (flocculati, sospensioni, aggregati microcristallini, ecc.),
- 6% particelle metalliche,
- 17% particelle o frammenti di plastica o gomma (questi ultimi derivanti da parti del contenitore),
- 9% alterazioni dovute ad inquinamento microbiologico.

### **Pareri espressi**

La procedura per il controllo dei corpi estranei in prodotti medicinali prevede che l’ISS, nel trasmettere al Dipartimento per la valutazione dei medicinali e la farmacovigilanza gli “esiti finali degli accertamenti tecnici ed analitici eseguiti”, proponga al Dipartimento medesimo, cui spettano le decisioni definitive, le misure da adottare “per la soluzione del caso”.

La formulazione di tale parere costituisce un momento impegnativo per i tecnici dell’Istituto le cui proposte sono state così articolate:

- non commercializzazione del lotto cui appartiene il campione esaminato;
- ispezione all’officina di produzione del medicamento;
- richiesta di informazioni al produttore sulle possibili cause che hanno dato luogo alla presenza del corpo estraneo;
- nessuna misura nei confronti del produttore ma opportuna informazione agli operatori sulla corretta manualità da utilizzare per la preparazione dei medicinali prima della somministrazione o sulle norme di conservazione del prodotto stesso.

L’articolazione di tali proposte è legata al fatto che mentre il ritrovamento di un corpo estraneo in una confezione integra di un medicamento costituisce senza dubbio una indicazione di una non adeguata osservanza, da parte del produttore, delle norme di buona fabbricazione, non altrettanto ovvia è la situazione relativa ai casi in cui il corpo estraneo viene rinvenuto quando il contenitore è stato aperto durante le operazioni che precedono la somministrazione del medicamento stesso, specie per la somministrazione per via iniettiva. Infatti in alcuni casi il “corpo estraneo” può originarsi:

- durante le operazioni di preparazione del medicamento sia per l'utilizzazione di accessori non appropriati (perforazione di tappi di gomma con aghi di dimensioni non adeguate), sia perché alcuni materiali costituenti il contenitore del medicamento non hanno le caratteristiche più appropriate (tappi di fiale-siringhe);
- per fessurazione non evidente del contenitore di vetro o plastica e successivo inquinamento microbiologico;
- a seguito di non idonee condizioni di conservazione.

I pareri formulati hanno suggerito, per circa il 50% dei casi esaminati, la non commercializzazione o in alcuni casi il sequestro del lotto a cui apparteneva il campione contenente il corpo estraneo; seguono nell'ordine l'ispezione all'Officina farmaceutica (~26%), la richiesta di informazioni al produttore (~15%) ed il richiamo ad una corretta manipolazione e conservazione del medicamento stesso (~9%).

### Conclusioni

Alla luce di quanto riportato emergono alcuni aspetti della procedura che, se modificati, potrebbero portare ad una più pronta e meno articolata definizione della maggior parte delle segnalazioni riguardanti i corpi estranei.

Sembra infatti più appropriato che la gestione diretta delle segnalazioni di corpi estranei venga fatta da funzionari dell'Autorità ispettiva (il Dipartimento) e non da quella di controllo (l'Istituto). Questo approccio, almeno in quei casi in cui il corpo estraneo è identificabile alla osservazione visiva (il 32% circa dei casi verificatesi dall'inizio dell'attuazione della procedura), permetterebbe di eliminare i tempi necessari all'Istituto per la formulazione e trasmissione del parere al Dipartimento; inoltre l'Autorità ispettiva potrebbe immediatamente effettuare una visita ispettiva all'Officina farmaceutica con la possibilità di chiarire, anche mediante l'esame dei campioni giacenti presso il produttore, se il caso segnalato sia da considerarsi un "incidente isolato" o meno.

Anche nell'altro 68% dei casi di segnalazione il coinvolgimento immediato dell'Autorità ispettiva faciliterebbe la soluzione dei singoli casi. Infatti un tempestivo contatto tra ispettore ministeriale e responsabile della produzione della Ditta coinvolta potrebbe mettere quest'ultimo nella condizione di identificare le cause che hanno determinato l'incidente fornendo al primo indicazioni utili per la scelta delle misure cautelative da intraprendere. La identificazione del corpo estraneo può essere successivamente richiesta all'Istituto al quale, oltre al campione stesso, dovranno essere trasmesse anche le eventuali informazioni fornite dalla Ditta sulle possibili cause che hanno determinato l'incidente.

A supporto della modifica proposta si fa presente che il coinvolgimento immediato degli ispettori nella procedura per la gestione dei corpi estranei è da anni attuato con soddisfazione dall'Agenzia per il Controllo dei Medicamenti del Regno Unito.

## Allegato n. 1

CIRCOLARE 26 FEBBRAIO 1997, N. 4

### MINISTERO DELLA SANITA'

#### Farmacovigilanza. Procedure per il controllo dei corpi estranei in prodotti medicinali.

	Alle	Regioni a statuto ordinario – Assessorato alla sanità
	Alle	Regioni a statuto speciale Trentino Alto Adige, Friuli Venezia Giulia, Valle d' Aosta, Sicilia e Sardegna - Assessorato alla sanità
	All'	Istituto Superiore di Sanità
	Al	Comando Carabinieri NAS
	Alla	Farmindustria
	Alla	Federfarma
e, per conoscenza	Ai	Commissari di Governo

Pervengono a questo Ministero da parte di aziende socio-sanitarie locali, di aziende ospedaliere e da parte di privati cittadini varie segnalazioni relative al rinvenimento di corpi estranei in prodotti medicinali.

La presenza di un corpo estraneo nei prodotti in questione costituisce indice di rischio per il paziente e potrebbe segnalare anomalie determinatesi durante il processo di fabbricazione.

Fondamentale per ogni valutazione successiva diventa, nei casi in questione, poter individuare l'esatta natura del corpo estraneo, molto spesso non determinabile ad un semplice esame visivo.

Al fine di definire una linea-guida per la gestione operativa di detti casi, questo Ministero ha affrontato l'esame del problema congiuntamente all'Istituto Superiore di Sanità pervenendo ai seguenti orientamenti:

- 1) la struttura che rileva una presenza di corpo estraneo in un prodotto medicinale o che riceve una segnalazione in tal senso da parte di un privato cittadino, deve innanzitutto salvaguardare l'integrità del confezionamento del prodotto medesimo ovvero, nel caso quest'ultimo sia stato già manomesso per l'impiego, operare una chiusura provvisoria che assicuri la conservazione del prodotto e del corpo estraneo nello stato di fatto in cui è stato rilevato;
- 2) la struttura medesima deve dare immediata comunicazione via fax al Dipartimento per la valutazione dei medicinali e per la farmacovigilanza di questo Ministero (fax n. 59943684) ed al Laboratorio di Chimica del Farmaco dell'Istituto Superiore di Sanità (fax n. 49387100) accompagnandola con una breve relazione che illustri le modalità di rinvenimento del corpo estraneo ed indichi nome del prodotto, numero del lotto e ditta responsabile dell'immissione sul mercato;

- 3) il campione di prodotto di cui al punto 1) deve essere inviato all'Istituto Superiore di Sanità – Laboratorio di Chimica del Farmaco, facendo riferimento alle comunicazioni di cui al punto 2);
- 4) il Dipartimento per la valutazione dei medicinali e la farmacovigilanza provvederà, se del caso, a disporre per il ritiro dal commercio dell'intero lotto da parte dell'azienda interessata ed all'eventuale sequestro amministrativo dello stesso in via cautelare in attesa degli accertamenti tecnici che saranno condotti da parte dell'Istituto Superiore di Sanità;
- 5) l'Istituto Superiore di Sanità verificherà innanzitutto la natura del corpo estraneo e deciderà, caso per caso, se chiedere tramite il comando NAS ulteriori campionature precisando modalità ed entità delle stesse e comunicherà al Ministero della Sanità eventuali iniziative da assumere in proposito in via provvisoria;
- 6) l'Istituto Superiore di Sanità trasmetterà al Ministero della Sanità – Dipartimento per la valutazione dei medicinali e la farmacovigilanza, gli esiti finali degli accertamenti tecnici ed analitici proponendo le misure da adottare in via definitiva per la soluzione del caso;
- 7) il Ministero della Sanità – Dipartimento per la valutazione dei medicinali e la farmacovigilanza, in conseguenza al parere dell'Istituto Superiore di Sanità, deciderà in via definitiva sulle ulteriori azioni amministrative da intraprendere ed adotterà le iniziative ritenute utili per assicurare il rispetto delle norme di buona fabbricazione da parte dell'officina produttrice;
- 8) il Dipartimento medesimo del Ministero della Sanità provvederà altresì a trasmettere se del caso debita informativa alle autorità sanitarie degli altri Paesi che risultassero interessati dalla commercializzazione del lotto di medicinale di che trattasi.

Si pregano gli uffici in indirizzo di voler dare adeguata informativa alle proprie strutture regionali interessate onde assicurare la completa e tempestiva applicazione delle linee-guida sopra enunciate.

Si resta in attesa di assicurazione.

Il Ministro: BINDI

## Allegato n. 2

### SEGNALAZIONI PERVENUTE. INDAGINI EFFETTUATE.

<u>Contenitore</u> <u>Forma</u> <u>Farmaceutica</u>	Condizione del campione *	Indagini sperimentali eseguite **	Identificazione corpi estranei	Misure suggerite alla Autorità competente
Flacone + siringa con solvente	C	X	Frammento solido ( $\varnothing < 0.5$ mm) origine probabile: cappuccio della siringa per inappropriata manipolazione dell'operatore	—
Siringa 5 ml	A	X	Frammento nero Origine probabile: stantuffo di plastica della siringa	—
Flacone	A	X	Aggregato cristallino ( $\varnothing 2$ mm) contenente ferro	Non commercializ- zazione del lotto
Fiala siringa	A	X	Aggregati cristallini contenenti ferro ( $\varnothing 10-200\mu\text{m}$ )	Lotto non idoneo all'uso
Ago sterile monouso	A	X	Capello tra due blister adiacenti (presumibilmente presente prima della saldatura)	Ispezione
Fiala 10 ml	A	X-Y	Particelle di plastica - gomma Particelle vetrose	Non commercializ- zazione del lotto Ispezione
Fiala	A	X	Frammento di vetro (0.5 - 0.3 mm)	Non commercializ- zazione del lotto Ispezione
Flacone 50 ml	A	X	Capello	Non commercializ- zazione del lotto

- \* A = confezione integra;  
B = confezione aperta;  
C = ricostituito per la somministrazione
- \*\* X = microscopia elettronica analitica;  
Y = sterilità ed apirogenicità;  
M = indagini microbiologiche;  
O = microscopio ottico;  
V = osservazione visiva

<b>Contenitore <u>Forma</u> <u>Farmaceutica</u></b>	<b>Condizione del campione *</b>	<b>Indagini sperimentali eseguite **</b>	<b>Identificazione corpi estranei</b>	<b>Misure suggerite alla Autorità competente</b>
Fiala 10 ml	A	X	Frammento di pellicola di natura organica	Non commercializzazione del lotto Ispezione
Fiala siringa	A	X	Cristalli di idrossido di alluminio e cloruro di sodio	Ispezione
Flacone 500 ml	A	V	Non si tratta di corpo estraneo, ma di flocculazione presente in tutti (5) i flaconi trasmessi	Parere non favorevole
Fiala 10 ml	A	X	Frammenti di film organico non meglio identificabile	Non commercializzazione del lotto Ispezione
Flaconcino per uso orale	A	X	Particelle di natura organica non identificate	Non commercializzazione del lotto
Apparato deflussore	A	V	Filtro di supporto (presenza di un elemento in più nel deflussore).	Ispezione
Fiala 4 ml	A	X	Frammenti a forma di lamine non identificati	Non commercializzazione del lotto
Flaconcino - 4 ml	A	X	Filamento microcristallino con composti del ferro	Non commercializzazione del lotto
Fiala 10 ml	A	X - Y	Frammenti di vetro con depositi di sali di ferro	Non commercializzazione del lotto
Flaconcino per uso orale	A	V	Insetto alato	Non commercializzazione del lotto Ispezione
Flacone 500 ml	B	X	Frammento del tappo di gomma per stress meccanico dovuto alla inserzione dell'ago (di dimensioni notevoli)	Incidente al personale paramedico

<u>Contenitore</u> <u>Forma</u> <u>Farmaceutica</u>	Condizione del campione *	Indagini sperimentali eseguite **	Identificazione corpi estranei	Misure suggerite alla Autorità competente
Flacone 250 ml	A	X - Y	Frammento di pellicola di plastica (teflon?)	Non commercializ- zazione del lotto
Flacone 5 ml	A	X	Particelle colorate di natura diversa (più fasi eterogenee)	Non commercializ- zazione del lotto Ispezione
Flacone 10 ml	B	V	Pelo o capello	Ispezione
Fiala	A	X	Corpuscoli solidi (fosfato alluminio, idrossido di alluminio) stress termico?	-----
Flaconcino per uso orale	A	V	Insetto	Non commercializ- zazione del lotto Ispezione
Fiala 10 ml	A	V	Frammento di vetro	Non commercializ- zazione del lotto
Fiala	A	V	Frammento di vetro	Ispezione
Flacone per uso orale	B	V	Insetto	Ispezione
Fiala siringa	A	X - V	Gocciolina gelatinosa immiscibile con il contenuto della siringa. Collante a base di Si?	Ispezione
Fiala 10 ml	A	X	Particella metallica (Cu)	Non commercializ- zazione del lotto
Flacone	C	X	Frammento del cappuccio della siringa	Non commercializ- zazione del lotto
Flacone 500 ml	C	X	Insetto	Non commercializ- zazione del lotto
Flacone 500 ml	A	X	Frammenti di plastica (teflon)	Non commercializ- zazione del lotto

<b>Contenitore <i>Forma Farmaceutica</i></b>	<b>Condizione del campione *</b>	<b>Indagini sperimentali eseguite **</b>	<b>Identificazione corpi estranei</b>	<b>Misure suggerite alla Autorità competente</b>
Fiala	A	X	Particella scura, probabile residuo di combustione	Richiesta di chiarimenti alla Ditta
Flacone 250 ml	A	X	Precipitato cristallino a base di ferro	Non commercializzazione del lotto
Flaconcino	C	X	Frammento del cappuccio della siringa	Richiesta di chiarimenti alla Ditta
Ago cannula	B	X	Frammento di natura cartacea	Ispezione
Siringa monouso sterile	A	X	Collante, parzialmente carbonizzato, all'esterno ed all'interno della cartaplastica da confezione.	Richiesta di chiarimenti alla Ditta
Kit attacco e stacco per dialisi	B	X	Insetto	Ispezione
Flacone 100 ml	B	V	Insetto	Campione aperto – nessun suggerimento
Flacone per uso orale	A	V	Frammento di insetto	Ispezione
Flaconcino orale	B	V	Frammento di vetro	Richiesta di chiarimenti alla ditta
Flacone 250 ml	A	X	Sottili frammenti di Al + fibre organiche	Non commercializzazione del lotto
Flacone 400 ml	<u>A</u>	Y+M	Microorganismo patogeno opportunisto (candida parapsilosis)	Non commercializzazione del lotto + richiesta di chiarimenti alla Ditta
Flacone 400 ml	A	Y+M	Frammenti non identificati	Non commercializzazione del lotto + richiesta di chiarimenti alla Ditta

<b>Contenitore <u>Forma</u> <u>Farmaceutica</u></b>	<b>Condizione del campione *</b>	<b>Indagini sperimentali eseguite **</b>	<b>Identificazione corpi estranei</b>	<b>Misure suggerite alla Autorità competente</b>
Contagocce monodose 0.1 ml	B	X	Frammento scuro non identificato (collante)	Ispezione
Flacone 100 ml	A	X	Frammento di materiale plastico	Ispezione
Flacone 500 ml	A	Y	Muffa formatasi per fessurazione del contenitore di vetro	-----
Fiala 10 ml	A	X	Frammenti metallici (Cu + Zn)	Non commercializ- zazione del lotto Ispezione
Flacone 500 ml	B	X	Microcristalli contenenti ferro	Richiesta di chiarimenti alla Ditta
Flacone 40 ml	B	V	Insetto	Richiamo alla Ditta
Fiala 10 ml	A	X	Frammenti di materiale parzialmente combusto	Richiesta alla Ditta di chiarimenti in merito
Fiala	B	X	Frammento di vetro	Richiesta di chiarimenti alla Ditta
Flacone 250 ml	A	X + M	Frammento di gomma	Richiesta di chiarimenti alla Ditta
Flacone 100 ml		X + M	Flocculato bianco dovuto ad inquinamento batterico (bastoncini gram-negativi)	Non commercializ- zazione del lotto; richiesta di chiarimenti alla Ditta
Deflussore per flebo	B	X	Struttura fibrosa	Ispezione
Confezione di NaHCO <sub>3</sub> (polvere)	A	X	Aggregati di microcristalli di NaHCO <sub>3</sub> con elementi estranei (collanti)	Non commercializ- zazione del lotto; richiesta di chiarimenti alla Ditta
Fiala	A	X	Frammento metallico (Fe + Cr)	-----

<b>Contenitore <u>Forma</u> <u>Farmaceutica</u></b>	<b>Condizione del campione *</b>	<b>Indagini sperimentali eseguite **</b>	<b>Identificazione corpi estranei</b>	<b>Misure suggerite alla Autorità competente</b>
Comprese in blister	A	O	Larve di insetti. Contaminazione avvenuta durante l'immagazzinamento o conservazione domestica.	-----
Catetere	A	V	Capello	Ispezione
Ago per biopsia	A	V	Capello	Ispezione
Flacone 500 ml	A	V	Ragno	Ispezione
Tubo di connessione	A	V	Capello	Ispezione
Siringa sterile	A	V	Capello	Richiamo alla Ditta
Flaconcino, ricostituito	B	X	Frammento di film di natura organica	Non commercializ- zazione del lotto
Flacone 500 ml	B	X	Aggregati microcristallini contenenti ossido di ferro	Richiesta di chiarimenti alla Ditta
Fiala siringa	A	X	Sospensione meno omogenea di quanto previsto (alluminio fosfato, stress termico)	Suggerite norme di conservazione
Flacone 500 ml	B	V+M	Contaminazione fungina	Non commercializ- zazione del lotto; ispezione
Apparato tubolare per perfusione	B	V	Insetto	-----
Fiala siringa	C	X	Frammento di gomma del cappuccio copriago	Non commercializ- zazione del lotto
Flacone 500 ml	A	X	Frammento di carta	-----
Flaconcino 10 ml	C	V	Materiale in sospensione (dopo ricostituzione)	-----

<b>Contenitore <u>Forma</u> <u>Farmaceutica</u></b>	<b>Condizione del campione *</b>	<b>Indagini sperimentali eseguite **</b>	<b>Identificazione corpi estranei</b>	<b>Misure suggerite alla Autorità competente</b>
Compresse		V+X	Frammento di gomma o plastica incluso in una compressa	Chiarimenti alla Ditta
Fiala siringa	A	V+X	Piccoli granuli, sospensione non omogenea (composti di alluminio stress termico)	Norme di conservazione
Flacone 10 ml	A	X	Particelle in sospensione, aggregati microcristallini	Non commercializzazione del lotto
Flacone 250 ml	B	X	Frammento di insetto	-----
Deflussore per soluzioni	B	V	Ragno	Ispezione
Tappo luer lock sterile	A	V+X	Macchia di olio o materiale lubrificante	Non commercializ- zazione del lotto
Flacone 200 ml	B	V+X	Frammento di plastica (6x8 cm)	Ispezione
Sacca 2000 ml	A	V+M	Contaminazione fungina	Non commercializ- zazione del lotto; ispezione
Flacone	A+C	V+X	Frammenti del tappo che si originano al momento della ricostituzione della soluzione	Non commercializ- zazione del lotto
Flacone 250 ml	A	V+X	Flocculato in sospensione	Non commercializ- zazione del lotto
Flacone 500 ml	A	V+M	Contaminazione fungina e batterica	Non commercializ- zazione del lotto
Flacone 10 ml	B	V	Frammento di un insetto	Ispezione
Flacone 50 ml	B	V+M	Contaminazione fungina	-----
Flaconcino	A	V+X	Particelle + film di natura organica	Non commercializ- zazione del lotto

### Allegato n. 3

## IL RUOLO DELLA MICROSCOPIA ELETTRONICA ANALITICA NELLA IDENTIFICAZIONE DEI CORPI ESTRANEI IN PRODOTTI MEDICINALI

### 1) La microscopia elettronica a scansione

Le attuali tecniche di microscopia elettronica e di spettroscopia a microsonda elettronica, ed in particolare la microscopia elettronica a scansione (SEM) interfacciata con la microanalisi a raggi X mediante spettrometria a dispersione di energia (EDS), costituiscono delle potenti metodiche analitiche in grado di fornire importanti informazioni sulla natura dei corpi estranei microscopici.

Tali tecniche, la cui risoluzione operativa arriva ad alcuni nanometri, hanno permesso di ampliare enormemente il campo di applicazione della microscopia ottica che, per i suoi limiti intrinseci, non supera una risoluzione di  $0.2 \div 0.3 \mu\text{m}$ .

*Campo di applicazione.* - La microscopia elettronica a scansione può essere applicata ad indagini morfologiche e strutturali su campioni biologici od inorganici dopo che il campione ha subito una opportuna preparazione.

Tale preparazione ha essenzialmente lo scopo di predisporre il campione ad una esposizione ad un alto vuoto ( $10^{-4}$  Pa) senza che per questo ne derivino, per la struttura del campione stesso, danni tali da renderne impossibile l'indagine strutturale, oltre che l'obiettivo di minimizzare i danni che l'irradiazione con fasci di elettroni di energia variabile fra 1 e alcuni KeV potrebbe produrre.

I metodi di preparazione tendono inoltre a ottimizzare il rapporto segnale/rumore per il particolare segnale (elettroni secondari, elettroni retrodiffusi, raggi X di fluorescenza, ..... ) che si intende utilizzare nell'indagine.

Il potere risolutivo ottenibile mediante un microscopio elettronico a scansione dipende fortemente da alcune caratteristiche strumentali, in particolare la tensione di accelerazione del fascio e la brillantezza della sorgente; in strumenti convenzionali (sorgente ad  $\text{LaB}_6$ ) e con tensioni fra 15 e 30 KV possono essere raggiunte risoluzioni fra 20 e 30 nm.

*Principio di funzionamento.* - Un microscopio elettronico a scansione consiste essenzialmente di una sorgente di elettroni, in grado di produrre una corrente intorno ai  $100 \mu\text{A}$  a tensioni di accelerazione fra 1 e 40KV, e di due o più lenti elettroniche operanti sotto vuoto.

Il fascio è focalizzato dalle lenti, consistenti in pratica da intensi campi magnetici a simmetria cilindrica, su di una area del campione di diametro variabile.

Un sistema di bobine elettromagnetiche deflette il fascio che in questo modo effettua una "scansione" di una fissata zona del campione; da ogni punto "illuminato" dal fascio sono emessi una serie di segnali (elettroni secondari, elettroni retrodiffusi, raggi X di fluorescenza, ecc.) che raccolti da opportuni rivelatori possono essere impiegati per costruire una "immagine" della zona su cui viene effettuata la scansione utilizzandoli per modulare l'intensità luminosa su di un tubo a raggi catodici.

L'immagine così prodotta può infine essere fotografata o registrata come immagine digitale.

*Operazioni preliminari.* - Preliminarmente ad una indagine mediante microscopia elettronica a scansione, il campione da esaminare dovrà essere preparato in maniera adeguata allo scopo, come è già stato sottolineato, di predisporre il campione ad una esposizione ad un alto vuoto senza che, per questo, la struttura del campione stesso subisca danni tali da renderne impossibile l'indagine strutturale.

Per campioni biologici questo implicherà una serie di trattamenti volti a disidratare il campione oltre che a conservarlo e proteggerlo mediante fissativi (quali glutaraldeide od acido osmico).

Successivamente sia i campioni biologici che quelli inorganici sono ricoperti da un sottile strato d'oro o altro materiale conduttore per minimizzare i danni che l'irradiazione con fasci di elettroni di energia variabile fra 1 e alcuni KeV potrebbe produrre con l'accumulo di carica elettrica o energia termica in zone localizzate del campione.

Generalmente vengono scelti quei materiali che ottimizzano il rapporto segnale/rumore per il particolare segnale (elettroni secondari, elettroni retrodiffusi, raggi X di fluorescenza, ..... ) che si intende utilizzare nell'indagine.

Le operazioni previste si possono così riassumere:

#### *campioni inorganici*

- montaggio del campione su portacampioni in Al o grafite mediante opportuni adesivi;
- ricoprimento del campione mediante film conduttore di opportuna natura;
- messa a massa della superficie del campione mediante ponti conduttori (generalmente in collante all'argento).

#### *campioni biologici*

- fissazione del campione, generalmente purificato e conservato in opportuna soluzione tampone ed eventualmente montato su di un supporto (p.e. vetrini, capsule Petri, ecc.), con sostanze in grado di formare legami fra le molecole proteiche;
- disidratazione del campione mediante una delle molte metodiche disponibili;
- montaggio del campione su portacampioni in Al o grafite mediante opportuni adesivi;
- ricoprimento del campione mediante film conduttore di opportuna natura;
  - messa a massa della superficie del campione mediante ponti conduttori (generalmente in collante all'argento).

## **2) La microanalisi a raggi x mediante spettrometria a dispersione di energia**

La microanalisi a raggi X mediante spettrometria a dispersione di energia (EDX) è una tecnica microanalitica che permette di ottenere informazioni sulla composizione chimica del campione con una risoluzione spaziale che varia dai  $10 \div 20 \mu\text{m}^3$  (per campioni costituiti da elementi a basso numero atomico) fino a meno di un  $\mu\text{m}^3$  (per campioni costituiti da elementi pesanti). La sensibilità analitica della metodica (la minima concentrazione che può essere misurata) dipende dalle condizioni sperimentali e dal peso atomico dell'elemento analizzato, può essere stimata dell'ordine di grandezza dello 0.1 % in peso.

**Campo di applicazione.** - Indagini analitiche al fine di determinare natura e composizione chimica di particelle, microstrutture, inquinanti, componenti varie con dimensioni fino al decimo di  $\mu\text{m}$  o inferiori, presenti in campioni di varia origine, e correlare tale informazione con dati morfologici e strutturali.

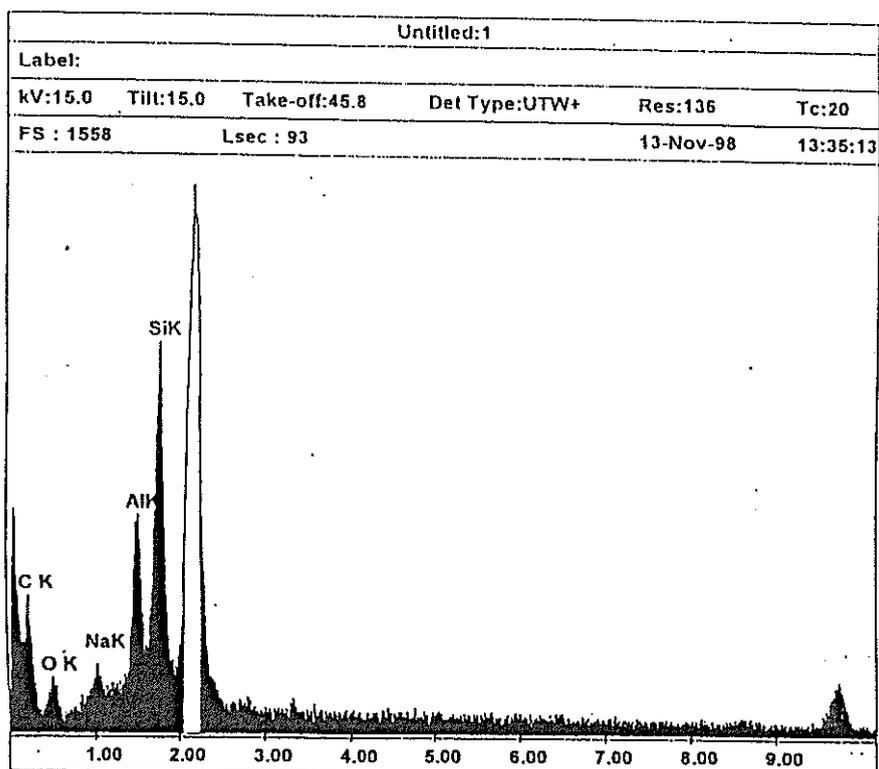
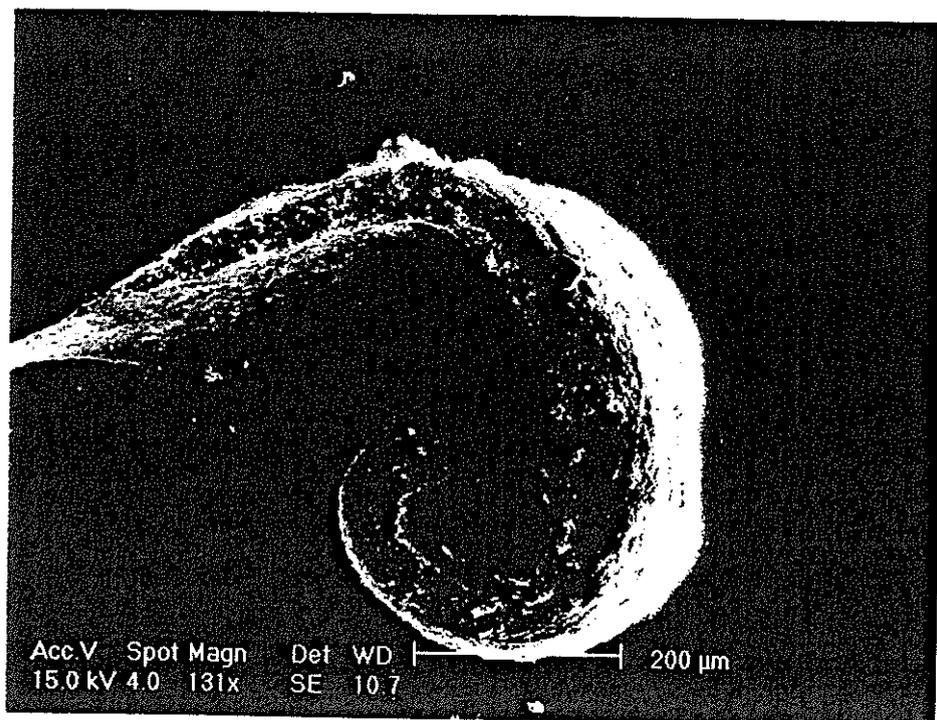
**Principio di funzionamento.** - Una sonda di elettroni, con energie variabili da alcuni KeV fino a 30 KeV, focalizzati in un fascio con diametro fino a meno di dieci nm, ionizza gli elettroni interni (shell K, L, M) degli atomi del campione; il processo porta all'emissione di raggi X caratteristici la cui rivelazione mediante spettrometri a dispersione di energia permette di riconoscere gli elementi chimici presenti nel campione e valutarne la concentrazione ponderale.

## **3) Applicazione delle tecniche di microscopia elettronica analitica alle indagini sui corpi estranei nei prodotti medicinali**

Negli ultimi anni presso l'Istituto Superiore di Sanità le metodiche di microscopia elettronica sono state applicate alle indagini sui corpi estranei presenti nei medicinali.

Si riportano a titolo di esempio alcuni risultati che permettono di evidenziare le informazioni ottenute con le metodiche sopra descritte.

- truciolo di gomma asportato, da un ago di siringa, dal tappo di un flacone in cui era contenuta una specialità medicinale liofilizzata (Figura 1); la morfologia del corpo estraneo osservata al SEM insieme alla composizione determinata mediante lo spettro EDX, che dimostra la presenza di una carica minerale costituita da alluminosilicati, permette una sicura identificazione dell'origine del corpo estraneo stesso.
- precipitato lattiginoso in una fiala siringa (Figura 2); all'osservazione al microscopio elettronico il corpo estraneo si presenta costituito da un deposito amorfo con un elevato contenuto di Al, poiché nella composizione della specialità medicinale era indicata la presenza di idrossido di Al il corpo estraneo è stato identificato come un precipitato di tale sostanza.
- granuli di colore rosso sospesi in un flacone di soluzione fisiologica (Figura 3); al SEM i granuli appaiono aggregati di microcristalli che risultano costituiti prevalentemente di Fe ed O, l'insieme dei dati ha permesso di concludere che i granuli erano costituiti da aggregati di ossidi di ferro.
- particelle di varia dimensione (1 - 100  $\mu\text{m}$ ) con fratture e spigoli vivi (Figura 4); all'osservazione al SEM le particelle appaiono come frammenti o schegge di un materiale costituito prevalentemente di Si con minori quantità di Al e Na, l'insieme dei dati ha permesso di concludere che le particelle erano costituite da frammenti di vetro.



**Fig. 1.** Immagine ottenuta mediante SEM e spettro EDX di un truciolo di gomma asportato dal tappo di un flacone.

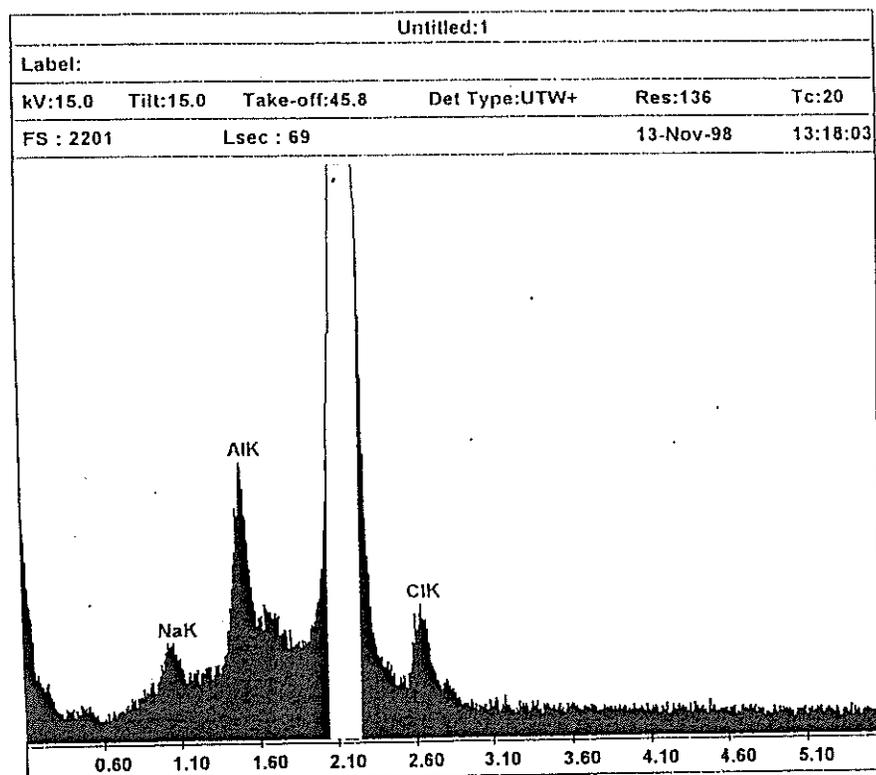
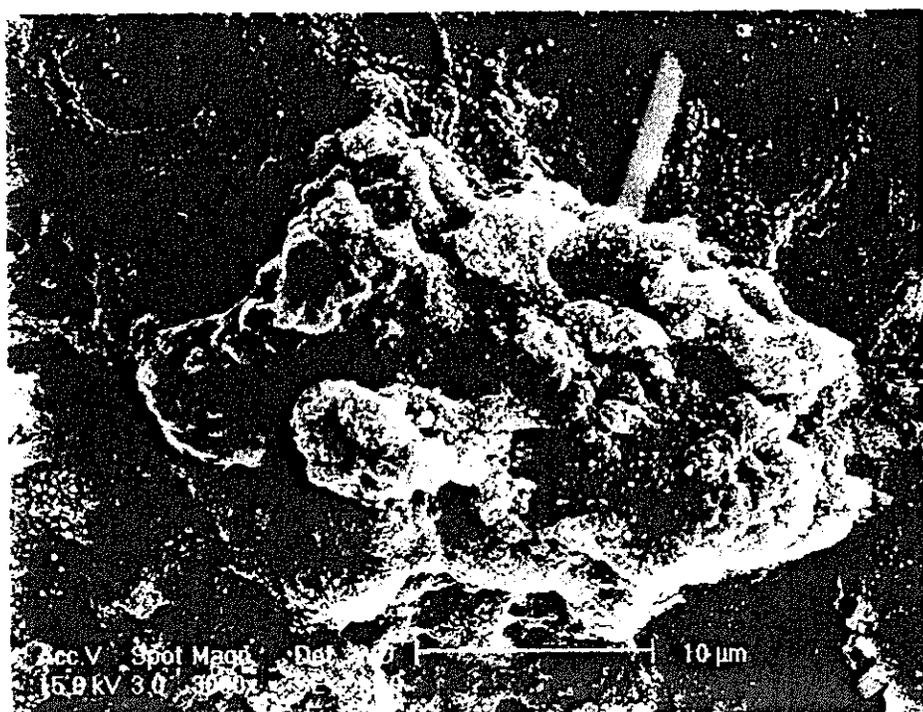


Fig. 2. Immagine ottenuta mediante SEM e spettro EDX di un precipitato lattiginoso presente in una fiala-siringa.

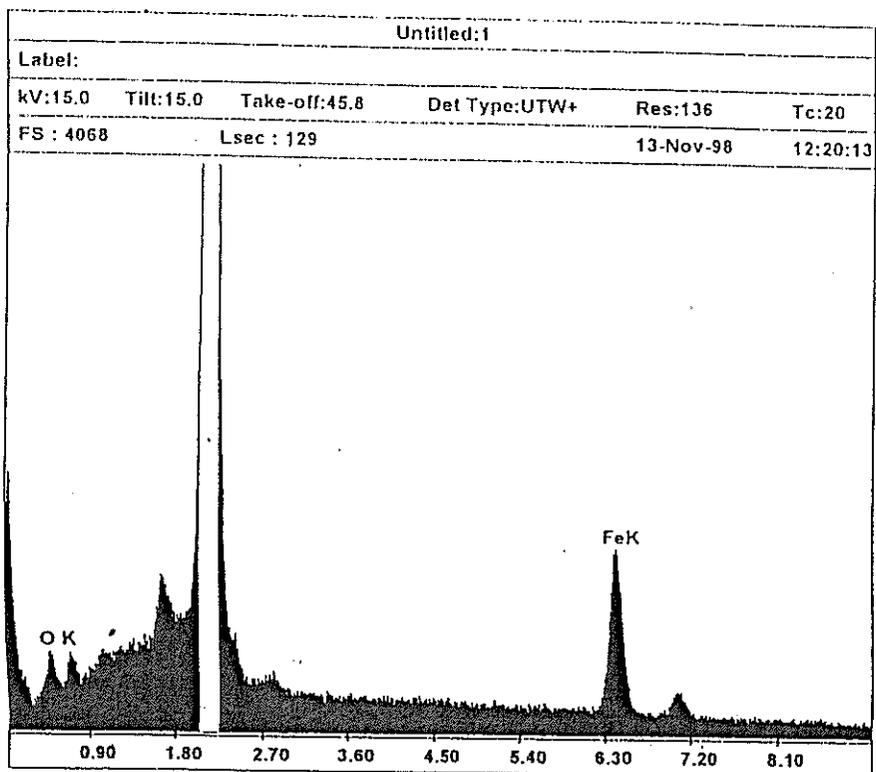
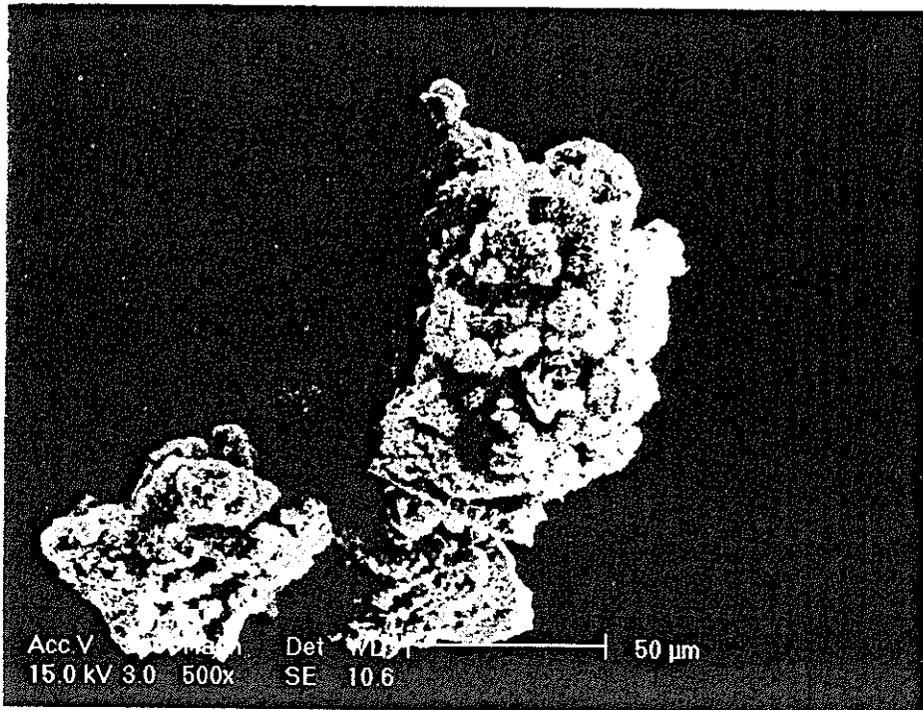


Fig. 3. Immagine ottenuta mediante SEM e spettro EDX di granuli sospesi in flacone di soluzione fisiologica.

*Direttore dell'Istituto Superiore di Sanità  
e Responsabile scientifico: Giuseppe Benagiano*

*Direttore responsabile: Vilma Alberani*

*Stampato dal Servizio per le attività editoriali  
dell'Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena, 299 - 00161 ROMA*

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN  
deve essere preventivamente autorizzata.*

*Reg. Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988*

*Roma, marzo 1999 (n. 1) 2° Suppl.*

*La responsabilità dei dati scientifici e tecnici  
pubblicati nei Rapporti e Congressi ISTISAN è dei singoli autori*