

## Criteri di armonizzazione delle modalità ispettive

Paola DI PROSPERO

*Laboratorio di Tossicologia Applicata, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

**Riassunto.** - Sia dall'esame dei verbali stilati dai vari gruppi ispettivi, sia dal confronto tra gli ispettori che annualmente ha luogo durante il corso di addestramento e aggiornamento presso l'Istituto Superiore di Sanità emerge la necessità di una sempre maggiore e continua armonizzazione delle modalità ispettive. Allo scopo di garantire uniformità di applicazione dei principi di buona pratica di laboratorio (BPL) l'Autorità di monitoraggio, con l'approvazione della Commissione nazionale di coordinamento, ha messo a punto linee guida per la conduzione delle verifiche ispettive destinate agli ispettori. La possibilità di ampliare le linee guida, sempre nel rispetto della normativa, permetterebbe di trasferire sul piano pratico i principi di applicabilità generale, evidenziando aspetti derivanti da situazioni effettivamente riscontrate durante anni di ispezioni, evitando perciò qualsiasi difformità di applicazione dei principi di BPL. A tale scopo sono state esaminate le osservazioni presentate dai vari gruppi ispettivi, a seguito della verifica di un buon numero di Centri di saggio con modalità perfettamente anonime sia per quanto riguarda i centri ispezionati, che per la composizione dei vari gruppi ispettivi.

*Parole chiave:* centri di saggio, buona pratica di laboratorio, unità di monitoraggio, modalità ispettive.

**Summary** (*Inspection procedures: harmonisation criteria*). - In order to achieve higher levels of harmonisation for the application of the principles of good laboratory practice (GLP), the monitoring Authority has set up for the inspectors some guidelines to conduct inspections, as approved by the National co-ordination committee. The extension of these guidelines should allow for an improved application of the GLP principles taking into account actual situations detected during inspections carried out over the past years. In this respect a great number of observations formulated by the inspectors after inspecting several test facilities have been examined without revealing laboratories' and inspectors' identities. In addition to this, the observations made by the inspectors during the annual training course at the Istituto Superiore di Sanità in 2000 have been carefully considered.

*Key words:* test facilities, good laboratory practice, monitoring authority, inspection criteria.

### Introduzione

L'estensione dei principi di buona pratica di laboratorio (BPL) ad altri settori in aggiunta a quello iniziale degli studi tossicologici ha portato in primo piano il problema della armonizzazione dei criteri di conduzione delle visite ispettive a causa di una maggiore varietà di tipologie di strutture, di saggi e di strumentazione. L'esperienza acquisita durante gli anni si è quindi ulteriormente arricchita nel tempo di aspetti relativi a settori diversi e a problematiche specifiche.

L'aggiornamento delle linee guida è certamente espressione delle esperienze acquisite dai vari paesi membri dell'OECD e il programma di visite congiunte reciproche, da poco conclusosi, ha avuto lo scopo di migliorare l'armonizzazione tra i paesi in questo settore, oltre che di verifica del grado di attuazione dei principi di BPL. Pertanto, dal momento che si tende al massimo grado di armonizzazione internazionale, a maggior ragione si rende necessario che vi sia il massimo grado di armonizzazione

interna a livello nazionale. Dalla approvazione del DL.vo 120/92 [1] ad oggi sono state effettuate circa 70 ispezioni ai Centri di saggio (CdS) che operano sul territorio nazionale e dalle esperienze dei singoli gruppi ispettivi sono emersi suggerimenti per la messa a punto di linee guida per la conduzione delle ispezioni, dedicate agli ispettori, che sono state più volte aggiornate. Queste linee guida sono da considerare come un elemento unificante fra i vari gruppi ispettivi. Gli ispettori e gli esperti possono infatti presentare differenze di formazione professionale di base, tanto amministrativa che scientifica. L'obiettivo generale è perciò quello di stabilire regole di comportamento comuni da adottare al presentarsi di casi già visti, oppure prevedibili, in modo da armonizzare ulteriormente l'azione di ispettori ed esperti. A tal fine è sicuramente prezioso lo scambio di opinioni e di esperienze fra gli ispettori che avviene ogni anno in occasione del corso di aggiornamento, riservato appunto ad ispettori ed esperti, che si tiene presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

A seguito delle problematiche descritte dai relatori e, ancora di più, a seguito delle esercitazioni riservate agli ispettori ed esperti, che si tengono nella seconda metà del corso, scaturiscono in genere discussioni e pareri in merito alle modalità applicative dei principi di BPL, che poi si traducono nel miglioramento e nella estensione delle linee guida per gli ispettori. L'Autorità di monitoraggio presso il Ministero della Salute infatti ha approntato una *check list* riservata agli ispettori che riporta in forma sintetica quanto contenuto nel DM del 5 agosto 1999 [2].

Recentemente, a seguito dello scambio di opinioni tra ispettori che ha avuto luogo durante il corso di aggiornamento per ispettori di BPL del 13 e 14 novembre 2000 tenutosi presso l'ISS, è stata apportata una variazione nella lettera di incarico per l'ispettore con l'introduzione della frase: "Durante la visita il gruppo ispettivo dovrà verificare l'avvenuta effettuazione delle azioni correttive realizzate dal Centro a seguito delle osservazioni formulate durante la verifica precedente".

Questo è un promemoria per l'ispettore che generalmente già ottempera a questa richiesta, anche se fino ad ora questo aspetto non era stato reso formale. Non basta, infatti, la verifica dei documenti inviati dal CdS al Ministero della Salute per dimostrare di aver effettuato le richieste del gruppo ispettivo, ma si rende necessaria una verifica *in loco* delle azioni correttive intraprese a seguito delle osservazioni degli ispettori.

Un altro punto discusso e poi uniformato è quello relativo alla necessità di consegnare copia delle osservazioni al CdS. Alla lettera di incarico è stata aggiunta la frase: "Al termine dell'ispezione, nel corso della riunione conclusiva, il gruppo ispettivo dovrà compilare, in duplice copia (di cui una da consegnare al Centro di saggio), il modulo allegato. Tale modulo dovrà essere compilato anche in assenza di osservazioni".

In sintesi, gli ispettori si attengono alle indicazioni elencate qui di seguito:

- le osservazioni si compilano in duplice copia a firma del GI;
- le osservazioni si leggono e si commentano nel corso della riunione conclusiva;
- si richiede ai responsabili del CdS la firma per accettazione, oppure per sola presa visione a seguito di eventuale contestazione;
- le controdeduzioni possono essere scritte subito o inviate in seguito all'Autorità di monitoraggio;
- per ogni azione correttiva richiesta si riporta il tempo limite assegnato per adottarla;
- deve essere indicato che il CdS dovrà fornire comunicazione scritta al Ministero della Salute di aver ottemperato a quanto richiesto ed accettato;
- si lascia una copia delle osservazioni al CdS, mentre si allega l'altra al verbale;
- si deve compilare il modulo previsto per le osservazioni anche se non ve ne sono.

Nonostante i principi di BPL non riportino distinzioni tra vari tipi di deviazioni, è importante che gli ispettori specifichino nel verbale se i rilievi sono tali da far

sospendere il rilascio della certificazione in attesa che vengano intraprese le azioni correttive, oppure, come si è verificato nella maggior parte dei casi, se i rilievi sono da considerare deviazioni minori che non inficiano la conformità ai principi di BPL, ma che necessitano comunque di essere sanate. Queste deviazioni possono portare ad un giudizio condizionato, il giudizio di idoneità potrà cioè essere emesso solo dopo riesame da parte della Commissione di coordinamento di documentazione a riprova delle azioni correttive intraprese. Quando invece le deviazioni sono di scarsa rilevanza, il verbale di ispezione viene comunque portato all'attenzione della Commissione di coordinamento che, qualora ritenga il CdS conforme alle BPL, può rilasciare un giudizio di idoneità provvisorio. Questo verrà reso definitivo solo al ricevimento della documentazione che possa dimostrare le azioni correttive intraprese.

Esempi di deviazioni rilevanti che possono implicare una mancata certificazione di idoneità ai principi di BPL per l'attivazione di un nuovo CdS, oppure la sospensione della certificazione in caso di rinnovo, sono riportate qui di seguito:

*1) Deviazioni rilevanti (sospensione della certificazione):*

- assenza dell'unità per l'assicurazione di qualità (UAQ) o inadeguatezza della stessa;
- assenza o alterazione di dati grezzi;
- assenza di verifiche ispettive interne;
- commistione tra attività in BPL e non in BPL;
- accumulo di funzioni incompatibili;
- personale numericamente insufficiente;
- un numero eccessivo di deviazioni minori che nel totale comunque possono compromettere la conformità alla BPL.

Esempi di deviazioni comunque rilevanti che possono compromettere l'accettabilità di uno studio e la conformità del CdS sono riportate ai punti seguenti.

*2) Altre deviazioni (giudizio condizionato, si aspettano le azioni correttive):*

- non corrispondenza fra dati grezzi e rapporto finale;
- mancata verifica da parte della UAQ, se prevista;
- utilizzo di apparecchiature non sottoposte a calibrazione e manutenzione;
- mancato rispetto del protocollo di studio nella conduzione dello stesso;
- ripetute correzioni non siglate e datate.

*3) Deviazioni minori (giudizio provvisorio con riserva):*

- correzioni non siglate;
- data di taratura (effettuata) non riportata su uno strumento;
- etichettatura incompleta di un campione;
- procedure operative standard (POS) non aggiornate o revisionate;
- fogli non numerati e non rilegati;
- protocollo non emendato (per operazioni essenziali);
- frigoriferi non chiusi a chiave.

Per avere una panoramica della tipologia dei rilievi effettuati dagli ispettori sono state esaminate le osservazioni finali relative a circa cinquanta ispezioni effettuate negli ultimi cinque anni. Per evitare qualsiasi tipo di riferimento ai CdS e ai GI i documenti esaminati erano stati opportunamente resi anonimi presso l'Autorità di monitoraggio. Sono quindi emersi molti elementi comuni, ma soprattutto molti aspetti che ancora non sono esattamente codificati, o che possono variare caso per caso, e che richiedono quindi una interpretazione dei criteri a seconda della situazione.

### Riunione di apertura

Si richiede la presenza della Direzione amministrativa e tecnica e del responsabile della UAQ. Il programma della visita deve essere concordato con i rappresentanti del CdS chiedendo esplicitamente di essere accompagnati dal responsabile della UAQ e individuando gli altri accompagnatori nelle varie fasi. Molto spesso l'organigramma inviato al Ministero della Salute non risulta aggiornato e a volte anche la planimetria non corrisponde a quella attuale. E' consigliabile quindi richiedere che vengano consegnate copie aggiornate formalmente, con lettera di accompagnamento, al GI già all'inizio della visita ispettiva.

E' importante definire immediatamente le tipologie di saggio per le quali è richiesta la certificazione o l'estensione della certificazione in caso di rinnovo, tenendo ben presente il campo di applicazione del DM 5 agosto 1999, che riporta testualmente: "I principi di BPL si applicano a tutti gli studi *non clinici* sulla sicurezza per la salute umana e per l'ambiente resi obbligatori dalla normativa in materia di registrazione e licenze di prodotti farmaceutici, antiparassitari, additivi per mangimi ed alimenti, prodotti cosmetici, medicinali ad uso veterinario e prodotti analoghi e da quella sui prodotti chimici".

Uno studio viene definito non clinico quando consiste in "prove effettuate ai fini previsti dalle regolamentazioni vigenti e volte a valutare la sicurezza di impiego sull'uomo, sugli animali e sull'ambiente di tutti i prodotti". La scheda riassuntiva delle caratteristiche del CdS che viene inviata al Ministero della Salute all'atto della domanda di certificazione riporta i principali settori di attività indicati nel paragrafo seguente.

### Categorie di saggi

Il GI ha anche il compito di verificare la corretta assegnazione dei saggi svolti presso il CdS alle seguenti categorie.

- saggi fisico-chimici;
- studi di tossicità;
- studi di mutagenesi;
- studi di tossicità ambientale su organismi acquatici e terrestri;

- studi sul comportamento in acqua, terra, aria, bioaccumulo;
- studi sui residui;
- studi degli effetti sul mesocosmo e ecosistemi naturali;
- chimica clinica e analitica;
- studi su campo (residui di pesticidi);
- metabolismo e/o farmacocinetica;
- rimozione dei virus/validazione della inattivazione;
- altri.

Quando la visita ispettiva si effettua per la prima volta gli ispettori hanno la necessità di ispezionare comunque degli studi già svolti che naturalmente non possono risultare formalmente effettuati secondo BPL. Questi studi sono da considerare studi pilota, effettuati cioè quando il CdS operava sostanzialmente, ma non ancora formalmente, in conformità ai principi di BPL. Inoltre, a discrezione del GI, possono essere ispezionate le strutture che saranno adibite ad effettuare un certo tipo di prova e la certificazione potrebbe essere data con riserva, cioè diventerebbe operativa solo quando sia effettuato almeno uno studio pilota. Bisogna infatti accertarsi che il CdS abbia la potenzialità per effettuare un determinato saggio in conformità ai principi di BPL.

### Separazione degli studi in conformità ai principi di buona pratica di laboratorio dagli altri

Una delle osservazioni più ricorrenti, almeno in passato, era l'assenza di una completa separazione nelle procedure per la ricezione dei sistemi di saggio e la loro registrazione, l'elencazione degli studi in corso e completati e l'archiviazione della documentazione.

In particolare, si richiede di identificare nell'archivio una zona dedicata o un sistema inequivocabile di distinzione degli studi in BPL da quelli non in BPL. Si ritiene cioè che si possa verificare la coesistenza delle attività in BPL con altre attività non specificatamente in BPL, purché venga assicurato il totale rispetto delle norme di BPL (distinzione temporale e/o spaziale) e tutte le attività formalmente in BPL risultino chiaramente distinte e facilmente identificabili rispetto a quelle formalmente non in BPL. Pertanto, gli strumenti devono riportare l'indicazione dell'utilizzo, sia pure temporale, per studi in BPL. Questa problematica si affronta spesso per i frigoriferi in quanto, per ragioni di costi e di spazi, non risulta ragionevole la assegnazione di frigoriferi diversi per studi in BPL e per quelli non in BPL. Si ritiene, tuttavia, che all'interno dei frigoriferi debbano essere adottati sistemi adeguati per separare e ben evidenziare la presenza di campioni e materiali afferenti a studi in BPL dagli altri studi. Naturalmente alla base di questo ragionamento c'è il fatto che questo è accettabile solo se il problema è strettamente formale, cioè se comunque viene assicurato il più elevato grado di rispondenza ai principi di BPL sia per gli studi formalmente in BPL sia per gli altri studi.

Inoltre, sulla base delle osservazioni più ricorrenti, sono stati individuati alcuni punti da sottoporre ad un più attento controllo.

#### *Frigoriferi*

Se la tipologia di saggi per i quali è richiesta la certificazione può far prevedere la disponibilità di campioni deperibili è necessaria la disponibilità di frigoriferi e/o di congelatori per la eventuale conservazione di tali campioni. I frigoriferi adibiti alla conservazione di materiali afferenti a studi in BPL devono essere dotati di serrature o situati in stanze chiuse a chiave (le chiavi devono essere conservate dal responsabile dell'archivio frigorifero). I frigoriferi adibiti ad archivio o per campioni relativi a studi in corso devono essere dotati di un gruppo elettrogeno di continuità e di un sistema di controllo e registrazione automatica della variazioni di temperatura interna.

#### *Quaderni di laboratorio*

Deve esistere una POS che descrive e regola l'utilizzo dei quaderni di laboratorio e deve esserci un registro degli stessi. Il quaderno di laboratorio consiste in un registro personale sul quale viene riportata ogni operazione analitica. Ogni operatore ne ha uno; in alternativa, c'è un quaderno per studi specifici.

Tutte le pagine devono essere numerate progressivamente prima dell'inizio dell'utilizzo. Al termine della giornata il titolare deve siglare le pagine eventualmente usate da un altro operatore, il cui nome deve risultare espressamente indicato. Il quaderno non deve essere mai lasciato incustodito, le correzioni vanno siglate e motivate e i dati numerici riportati con le unità di misura. I quaderni predisposti per studi specifici devono essere archiviati con lo studio stesso e le pagine rimaste inutilizzate devono essere barrate. Il quaderno intero non specifico di uno studio deve essere consegnato al responsabile dell'unità analitica che ne registra l'archiviazione e lo consegna alla UAQ che a sua volta lo avvia all'archivio. Si richiede, inoltre, che le operazioni inerenti gli studi in BPL siano facilmente distinguibili dagli altri eventuali studi. Infine, il quaderno può essere mantenuto in un archivio temporaneo fino alla conclusione dello studio.

#### *Materiali e reagenti*

I contenitori dei materiali e reagenti devono essere debitamente etichettati anche dal punto di vista della etichettatura di pericolo prevista dalla normativa vigente a tutela della salute dei lavoratori. La scheda di registrazione dei campioni deve riportare l'eventuale indicazione di pericolo e le precauzioni d'uso nel caso di sostanze pericolose. Le precauzioni d'uso e di primo soccorso devono essere a disposizione del personale in lingua italiana.

#### *Convalida della strumentazione*

Si verifica la registrazione della convalida in un registro per la strumentazione assieme alla seguente documentazione: ordine di acquisto; POS per la convalida; scheda di *installation qualification* (IQ) e altre schede usate per la convalida (*operational qualification*, OQ, e *performance qualification*, PQ); dati grezzi; manuale operativo dello strumento; dati e schede del mantenimento della convalida.

#### *Sistemi computerizzati*

Deve essere disponibile una dichiarazione del fornitore sulla disponibilità del codice di sorgente per eventuali controlli da parte delle autorità. Devono esistere POS per la definizione, raccolta, inserimento, verifica, variazione, e archiviazione dei dati grezzi. I dati possono essere inizialmente raccolti su carta e poi trasferiti al computer, o trasferiti da *display*, oppure acquisiti direttamente. E' fortemente raccomandata la verifica di dati che poi non possono essere più ricontrollati (ad esempio, il peso del campione che viene trasferito a mano dal *display* della bilancia al computer).

Riguardo alla formazione del personale possono rendersi necessari diversi tipi di addestramento degli utilizzatori dei computer a seconda del loro livello di accesso. E' necessario prevedere eventuali corsi di formazione specialistici per la UAQ se il sistema è molto complesso. Il direttore di studio deve essere in grado di comprendere tutto ciò che si fa attraverso computer.

In merito alla sicurezza, deve essere funzionante un sistema di prevenzione degli accessi non autorizzati al sistema. Sono indispensabili liste del personale autorizzato per l'inserimento e la correzione dei dati. Sono infine necessari programmi antivirus aggiornati e devono essere previste procedure di *back-up*.

#### *Audizioni degli studi*

La presenza della UAQ è fortemente raccomandata. Se possibile, il direttore dello studio che si sta valutando dovrebbe rispondere ad eventuali richieste di chiarimenti. Comunque, si ritiene consigliabile di avvalersi della presenza di almeno un rappresentante del CdS.

#### *Riunione di chiusura*

Devono risultare presenti alla riunione di chiusura i responsabili del CdS, il responsabile della UAQ e possono essere presenti altre figure a discrezione del GI. E' opportuno spiegare ai responsabili del CdS che il verbale viene inviato all'Autorità di monitoraggio presso il Dipartimento della prevenzione e che la Commissione di coordinamento ne prende visione ai fini della certificazione di conformità. Il CdS può richiedere copia del verbale all'Autorità di monitoraggio. Questo verbale deve essere messo a disposizione del CdS su richiesta

ufficiale della Direzione. Il CdS deve essere informato che solo al ricevimento della comunicazione da parte del CdS dell'effettuazione delle azioni correttive nei tempi prestabiliti è possibile rilasciare la certificazione. La Commissione di coordinamento può ritenere l'effettuazione delle azioni correttive non vincolante ai fini della certificazione, se esplicitamente richiesto dal GI nel verbale.

#### *Parere del GI*

Deve risultare chiaramente se il GI è favorevole o meno all'eventuale rilascio della certificazione da parte della Commissione di coordinamento. Deve essere inoltre indicato chiaramente se il rilascio della certificazione è subordinato o meno alla effettuazione delle azioni correttive.

#### *Documentazione delle azioni correttive*

Nel caso di variazioni alle strutture è consigliabile la richiesta di invio della planimetria aggiornata e di una documentazione fotografica. Nel caso di acquisto di nuova strumentazione è consigliabile la richiesta della copia della fattura opportunamente oscurata per quel che riguarda i costi, se il CdS lo ritiene opportuno (si può anche accettare una copia dell'ordine di acquisto). Nel caso di richieste relative alle POS l'invio va richiesto dopo l'avvenuto aggiornamento. Nel caso di variazioni della documentazione inviata prima dell'ispezione va chiesto che essa venga aggiornata o fornendone copia al GI o mediante invio successivo. In tutti i casi va indicato chiaramente quali documenti aggiuntivi devono essere inviati al Ministero della Salute (e non direttamente agli ispettori).

#### *Procedure operative standard*

Ogni POS deve prevedere la lista di distribuzione con relative firme (la lista può anche essere tenuta a parte). La POS deve riportare la qualifica dei firmatari per redazione e approvazione.

Alcuni esempi di possibili rilievi sono la firma solo del direttore amministrativo, l'assenza di presa visione e approvazione delle POS da parte della UAQ e l'uso di terminologia difforme da quella riportata dal DM 5 agosto 1999.

#### *Unità per l'assicurazione di qualità*

Va accertato che sia stato predisposto e seguito un programma di esame delle fasi critiche dello studio. Si verifica la presenza dei verbali delle audizioni interne da parte della UAQ e solo in caso di effettiva necessità si può chiedere di visionarne il contenuto (ad esempio, un'audizione mirata). In un caso è stato opposto un netto rifiuto da parte della UAQ, come risulta dal verbale relativo. I rapporti devono essere stati trasmessi al Direttore dello studio e alla Direzione del CdS.

In generale, la casistica delle deviazioni riscontrate dagli ispettori è piuttosto vasta, ma quelle più ricorrenti e comunque più importanti possono essere raggruppate in un elenco abbastanza ridotto. Non bisogna dimenticare, peraltro, che molte di queste deviazioni venivano osservate in passato e non risultano dai verbali delle visite ispettive più recenti.

Alcune deviazioni frequenti desunte dai verbali esaminati sono le seguenti: accesso al CdS non sufficientemente separato dalle altre aree; laboratori microbiologici con finestre apribili all'esterno; pavimenti dello stabulario con punti di discontinuità e angoli vivi; aree di sovrapposizione nello stabulario tra zona sporca e zona pulita; assenza di modulistica per presa in carico delle sostanze di saggio e degli animali da laboratorio; POS di ricevimento dei campioni senza modalità di allestimento dei controcampioni destinati all'archivio; assenza di modulistica per accessi agli archivi; conservazione della documentazione in archivi non ignifughi (armadi); strumenti non dotati di etichette con l'indicazione dell'ultima manutenzione effettuata; etichette dei reagenti prive di data di apertura e scadenza dei prodotti; assenza di indicazione della qualifica specifica dei firmatari delle POS (redazione, approvazione); revisione delle POS senza variazioni non indicata; assenza di registrazione per presa visione dei rapporti della UAQ; assenza di certificazione di addestramento esterno.

### **Conclusioni**

Questa rassegna dei punti salienti che si sono rivelati critici durante gli ultimi anni di verifiche ispettive non ha certamente la pretesa di essere completa o di voler rappresentare una lista di "obblighi" per gli ispettori, ma ha in realtà lo scopo di evidenziare gli aspetti che richiedono una particolare attenzione e soprattutto necessitano di una uniformità di comportamento da parte dei vari gruppi ispettivi. Niente di quanto esposto vuole andare in alcun modo oltre ciò che è previsto e descritto dai principi di BPL. Si tratta solo di uno sforzo interpretativo dei principi stessi, basato sulla esperienza pratica che deriva dall'esame dei verbali relativi alle visite ispettive effettuate.

Lavoro presentato su invito.  
Accettato il 13 novembre 2001.

### **BIBLIOGRAFIA**

1. Italia. Decreto legislativo 27 gennaio 1992, n. 120. Attuazione delle direttive n. 88/320/CEE e n. 90/18/CEE in materia di ispezione e verifica della buona prassi di laboratorio. *Gazzetta Ufficiale* n. 40, 18 febbraio 1992.
2. Italia. Ministero della Sanità. Decreto ministeriale 5 agosto 1999. Disposizioni relative all'ispezione e verifica della buona prassi di laboratorio in recepimento delle direttive 1999/11/CE e 1999/12/CE. *Gazzetta Ufficiale* n. 241, 13 ottobre 1999.