

Giornale Italiano di **Farmacoeconomia** e **Farmacoutilizzazione**

**FOCUS SU UTILIZZO, RISCHIO-BENEFICIO E COSTO-EFFICACIA
DEI FARMACI E SULLE POLITICHE SANITARIE**

Rivista ufficiale di:
Servizio di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP) e
Società Italiana di Terapia Clinica e Sperimentale (SITECS)

Pubblicazione trimestrale

Volume 16 • Numero 1 • Gennaio 2024

ANGOLO DEL MASTER IN FARMACOVIGILANZA



Edizioni Internazionali srl
Divisione EDIMES
Edizioni Medico-Scientifiche - Pavia
Via Riviera, 39 - 27100 Pavia
Tel. 0382/526253 r.a.
Fax 0382/423120
E-mail: edint.edimes@tin.it

Direttore responsabile
Paolo E. Zoncada

Segreteria di Redazione
Federica Galimberti
Elena Loggia
Via Balzaretti, 9
20133 Milano
E-mail: segreteria@sefap.it
Tel 02 5031 8259

La pubblicazione di un articolo sul giornale GIFF implica l'impegno degli Autori a rispettare una open access Creative Commons license (CC-BY). Secondo i termini di questa licenza, gli Autori conservano la proprietà dei diritti d'autore dei loro articoli. Tuttavia, la licenza consente a qualsiasi utente di scaricare, stampare, estrarre, riutilizzare, archiviare e distribuire l'articolo, purché sia dato credito agli Autori e alla fonte del lavoro, attribuendo adeguatamente la paternità del materiale, fornendo un link all'originale e indicando se sono state effettuate modifiche.

Giornale Italiano di Farmacoeconomia e Farmacoutilizzazione

**FOCUS SU UTILIZZO, RISCHIO-BENEFICIO E COSTO-EFFICACIA
DEI FARMACI E SULLE POLITICHE SANITARIE**

Rivista ufficiale di:
Servizio di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP) e
Società Italiana di Terapia Clinica e Sperimentale (SITeCS)

Pubblicazione trimestrale

Volume 16 • Numero 1 • Gennaio 2024

Sommario

- **ANGOLO DEL MASTER IN FARMACOVIGILANZA**
**La completezza delle segnalazioni di reazioni avverse ai farmaci:
un requisito critico per la gestione del segnale**
F. Attolini, F. Rollo, A. Oliva
**Un nuovo processo per stimare la popolazione esposta ai farmaci topici:
due esempi**
I. Corsetti, K. Felke, P. Gerecke
**Valutazione e analisi della presenza delle n-nitrosammine
nei principi attivi prodotti presso l'azienda dipharma: teoria e pratica**
A.M. Lis, R. Carcano

5

15

26

Editor in Chief

Alberico L. CATAPANO

Dip. di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari
Università degli Studi di Milano

Board editoriale

Vincenzo ATELLA

Facoltà di Economia
Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"

Claudio BORGHI

Dipartimento di Medicina Clinica e Biotecnologia Applicata
"D. Campanacci" Università degli Studi di Bologna

Ovidio BRIGNOLI

Società Italiana di Medicina Generale (SIMG)

Achille CAPUTI

Dipartimento Clinico Sperimentale Medicina e Farmacologia
Università degli Studi di Messina

Manuela CASULA

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari
Università degli Studi di Milano

Francesco CIPOLLONE

Centro Studi di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento
Università degli Studi di Chieti - Pescara

Giovanni CORRAO

Dipartimento di Statistica Socio Demografica
Università degli Studi Milano Bicocca

Romano DANESI

Dipartimento di Medicina Interna
Università degli Studi di Pisa

Gianfranco DE CARLI

GDC - Pharmservices

Renato FELLIN

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale
Università degli Studi di Ferrara

Ettore NOVELLINO

Dipartimento di Chimica Farmaceutica e Tossicologica
Università degli Studi di Napoli Federico II

Francesco ROSSI

Dipartimento di Medicina Sperimentale
Seconda Università degli Studi di Napoli

Elena TRAGNI

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari
Università degli Studi di Milano

Mauro VENEGONI

Centro Regionale di Farmacovigilanza della Lombardia

Cari colleghi,

il presente numero descrive tre esperienze condotte nell'ambito dello stage del Master di Farmacovigilanza. Il primo progetto, svolto presso Viatris Italia s.r.l, si è focalizzato sulla qualità e sulla completezza delle segnalazioni di reazioni avverse, caratteristiche essenziali per la corretta identificazione dei segnali di sicurezza e quindi per le procedure di gestione dei segnali. Lo studio si è proposto di identificare un punteggio che permetta di valutare quantitativamente la qualità delle segnalazioni di reazioni avverse tenendo conto dell'importanza relativa di alcuni campi specifici, che possono essere cruciali per la valutazione della causalità.

Il secondo progetto, svolto presso Mibe Pharma Italia, ha riguardato la creazione di un processo replicabile che, sulla base dei dati registrativi e di letteratura, permetta di costruire uno stimatore valido della popolazione esposta a partire dai dati di vendita. L'elaborato ne discute l'applicazione in due esempi, lo smalto per unghie all'amorolfine, utilizzata per il trattamento delle onicomicosi ungueali, e il gel e l'unguento al calcipotriolo/betametasone per il trattamento topico della psoriasi.

Il terzo progetto, svolto presso Dipharma Francis s.r.l., ha affrontato il rischio della presenza di nitrosammine nei farmaci per uso umano e si è concentrato sulla valutazione dei rischi. La presenza di livelli inaccettabili di impurità nocive nei prodotti farmaceutici rappresenta infatti una minaccia per la salute pubblica che può avere effetti di vasta portata sui pazienti, sull'industria farmaceutica, sulle agenzie di regolamentazione e sugli operatori sanitari. Per garantire la qualità dei prodotti farmaceutici, i produttori devono valutare correttamente il rischio di formazione di nitrosammine nei loro prodotti e approfondire ogni potenziale rischio.

Vi auguro Buona Lettura!

Alberico L. Catapano
Editor in Chief



Master in FARMACOVIGILANZA

anno accademico 2022-2023

LA COMPLETEZZA DELLE SEGNALAZIONI DI REAZIONI AVVERSE AI FARMACI: UN REQUISITO CRITICO PER LA GESTIONE DEL SEGNALE

The completeness of Adverse Drug Reaction reports: a critical requirement for Signal Management

Francesca Attolini, Francesca Rollo, Andrea Oliva

Progetto di stage svolto presso Viatris Italia S.r.l., Milano

Keywords

Pharmacovigilance
Adverse Drug Reaction
Individual Case Safety
Reports
Safety Signal
Completeness Score

Abstract

Introduction The quality and completeness of Individual Case Safety Reports (ICSRs) are essential features for the proper identification of safety signals and thus in signal management procedures.

Objective The aim of this study was to identify a scoring grade that allows the quality of Adverse Drug Reaction (ADR) reports to be evaluated quantitatively, taking into consideration the relative importance of some specific fields, which may be crucial for causality assessment.

Methods In particular, the fields in ADR reports were divided into three main categories, to which different importance was attributed: the first category that includes information critical to causality assessment, a second level that comprises significant information for case analysis and a third level category for details that are considered relevant for medical history but not crucial for the assessment of ADR. The scoring method has been tested on 609 ICSRs, retrieved by the Italian National Pharmacovigilance Network. For each report form, an overall score was calculated resulting from the sum of the individual scores given to each field, depending on the relative importance assigned to each information described.

Results The analysis showed that 18.23% of the ICSRs were poorly documented, 61.41% were moderately documented, and only 20.36% were well documented. A dependence between the degree of completeness of reports and the reporter type was found, with the highest scores for the main categories of Healthcare Professionals (HCPs), such as pharmacists and physicians, followed by patients and finally by reports from literature articles, which showed significantly lower scores than the other categories.

Conclusion Although improvements in the quality of reports have been shown over time, it is crucial that this implementation process continues towards higher standards. To improve quality and completeness of ADR data, interaction between stakeholders is essential and can be simplified through a direct numerical visualisation of the results. For this purpose, the development of an accurate and easy-to-apply scoring method must be considered the first challenge to deal with.

Introduzione

I farmaci e i vaccini hanno migliorato la prevenzione e il trattamento delle patologie. Oltre ai benefici, tuttavia, i prodotti medicinali possono anche causare effetti collaterali, potenzialmente indesiderati e inattesi. I prodotti medicinali vengono autorizzati in base al fatto che nelle indicazioni specificate, al momento dell'autorizzazione, il rapporto rischio-beneficio è considerato positivo per la popolazione target. Tuttavia, non tutte le reazioni avverse e rischi sono identificati al momento dell'autorizzazione all'immissione in commercio e alcuni possono essere rilevati e caratterizzati solo nella fase post-autorizzativa.

Proprio per questo motivo, la farmacovigilanza risulta essenziale: questa disciplina riguarda le attività associate alla rilevazione, valutazione, comprensione e prevenzione degli eventi avversi o di qualsiasi altro problema associato alla somministrazione di farmaci o vaccini [1, 2].

Il suo obiettivo è quello di promuovere l'uso sicuro ed efficace dei farmaci, fornendo informazioni affidabili per la valutazione del profilo beneficio-rischio dei farmaci in commercio, al fine di minimizzarne i rischi. Il sistema di farmacovigilanza dell'Unione Europea (UE) ha infatti la funzione di tutelare la salute dei pazienti, assicurando che il profilo di sicurezza dei prodotti medicinali in commercio sia sotto continua valutazione e revisione [3].

Le fonti per le informazioni di sicurezza e segnalazioni di eventi avversi sono molto vaste e includono i sistemi di segnalazione spontanea da parte di pazienti e professionisti sanitari (Healthcare Professionals, HCP); segnalazioni da studi clinici o post-autorizzativi; segnalazioni sollecitate provenienti da programmi di supporto ai pazienti (PSP) o ricerche di mercato (Market Research Programs, MRPs); segnalazioni da letteratura scientifica; segnalazioni provenienti da social media o siti web. Tuttavia, all'interno di questo ambito diversificato, la segnalazione spontanea costituisce ancora il fulcro della sorveglianza della sicurezza post-marketing dei farmaci [4].

Gestione del segnale

Secondo le *Good Pharmacovigilance Practices* (GVP), un segnale è un'informazione che suggerisce una nuova associazione potenzialmente causale, o un nuovo aspetto di un'associazione nota tra un intervento e un evento o un insieme di eventi correlati, avversi o benefici, che viene giudicata sufficientemente probabile da giustificare un'azione di verifica. Pertanto, il processo di gestione del segnale è un insieme di attività condotte per verificare se esistono nuovi rischi legati a un principio attivo o a un medicinale o se i rischi noti sono cambiati. Il processo di gestione del segnale nell'UE consiste in fasi sequenziali: rilevamento del segnale, convalida, conferma, analisi del segnale e definizione delle priorità, valutazione del segnale e raccomandazione di azione [5, 6]. Le fonti da cui può derivare un segnale di sicurezza sono molteplici, ad esempio dati qualitativi, non clinici e clinici (comprese le informazioni di farmacovigilanza e farmaco-epidemiologiche). I principali sistemi e fonti su cui concentrarsi sono i sistemi di segnalazione spontanea, i sistemi di sorveglianza attiva, gli studi clinici e la letteratura scientifica. Concentrandosi sul ruolo chiave degli *Individual Case Safety Report* (ICSR), la fase di convalida del segnale (cioè il primo passo per confermare un segnale identificato) si basa su alcuni aspetti cruciali dei dati degli ICSR: notorietà, forza dell'evidenza, rilevanza clinica e qualità dei dati e della loro documentazione [5].

Valutazione della causalità e necessità di segnalazioni complete e di qualità

La valutazione della causalità in farmacovigilanza può avvenire sia a livello del singolo caso clinico sia a livello di una serie di casi. Può essere possibile identificare con sufficiente certezza un'associazione farmaco-evento solo con pochi casi, se alcune caratteristiche di causalità sono ben documentate. Ciò sottolinea la necessità di un alto grado di completezza per ciascuna segnalazione [7].

Sono stati descritti diversi metodi di valutazione della causalità che collegano la farmacoterapia agli eventi avversi. Questi metodi possono utilizzare il giudizio clinico (una valutazione individuale della reazione avversa da farmaco – *Adverse Drug Reaction*, ADR – comunemente eseguita da un esperto clinico, che impiega le sue conoscenze scientifiche e la sua esperienza) oppure metodi algoritmici, che calcolano la probabilità della

correlazione farmaco-evento dal punteggio complessivo ottenuto rispondendo a una serie sequenziale di domande predefinite [8].

Non è difficile comprendere che la valutazione della causalità richiede dati dettagliati. Oltre alla necessità, in generale, che le informazioni riportate siano il più possibile complete per una corretta valutazione dell'ICSR, bisogna considerare che molti degli algoritmi non possono essere applicati in modo rigoroso a causa dei dati mancanti [9]. Analogamente, le GVP sottolineano ripetutamente la necessità di stabilire specifiche procedure e un sistema di qualità ben strutturato per garantire la qualità, l'integrità e la completezza degli ICSR sottomessi [10].

L'appropriatezza dei dati per la valutazione delle segnalazioni di ADR

Sono disponibili diversi studi sulla valutazione della qualità delle segnalazioni di ADR spontanee, alcuni dei quali hanno proposto metodi e algoritmi per calcolare un punteggio che esprime la completezza complessiva di una segnalazione.

Uno dei primi metodi sviluppati con questo scopo, da Agbabiaka et al., era basato su una scala di valutazione della qualità che esaminava le segnalazioni di ADR considerando tre domini principali: informazioni e regime terapeutici, storia clinica del paziente, diagnosi e farmaci e dettagli dell'evento avverso o dell'interazione farmacologica. A seconda delle informazioni riportate, venivano assegnati 2 punti per ogni campo completo, 1 punto per le informazioni non esaustive e 0 punti per ogni campo vuoto. Dalla somma dei singoli punteggi si otteneva un punteggio complessivo che indicava la qualità della segnalazione. Il limite principale di questo studio, riconosciuto anche dagli stessi autori, era dovuto all'assegnazione di un'uguale importanza a tutti i campi della segnalazione considerati, indipendentemente dalla loro rilevanza clinica [11]. Successivamente, Tuccori et al. hanno sviluppato e validato un algoritmo per la valutazione multidimensionale della qualità delle segnalazioni di casi di ADR (QADRA). Hanno considerato quattro elementi importanti per determinare la qualità delle segnalazioni: causalità, notorietà, rilevanza clinica e completezza. Questo algoritmo era articolato in più sub-algoritmi. Tra questi, il sub-algoritmo di causalità è stato sviluppato includendo criteri di associazione temporale, forza della relazione farmaco-evento avverso (associazione con dechallenge e rechallenge) e specificità (mancanza di cause alternative). Per il sotto-algoritmo della completezza, i punteggi erano assegnati come segue: nessun punto quando mancavano le informazioni essenziali (identificazione del paziente per età e sesso, data di insorgenza dell'ADR, data di inizio e durata del trattamento con i farmaci sospetti, esito e gravità); 1 punto quando erano riportate solo le informazioni essenziali; da 2 a 5 punti quando era possibile recuperare dati più dettagliati [12].

L'*Uppsala Monitoring Centre* (UMC) ha sviluppato *vigiGrade*, un punteggio che riflette la completezza delle segnalazioni spontanee. Il calcolo di *vigiGrade* coinvolge dieci campi considerati critici nella valutazione della causalità: tempo di insorgenza, indicazione terapeutica, esito dell'evento, sesso del paziente, età, dose, Paese, segnalatore primario, tipo di segnalazione e commenti. Per ogni dimensione mancante, viene sottratto un punteggio che varia a seconda della rilevanza clinica dell'informazione. Il punteggio *vigiGrade* può variare da 0,07 (segnalazioni con nessun campo compilato) a 1 (segnalazioni complete). Sono escluse dal calcolo le sezioni di testo libero nel campo dei commenti. Un aspetto importante sottolineato dall'UMC è che il punteggio riflette la quantità di informazioni fornite, ma non se queste rafforzano il sospetto di una relazione causale [13]. Successivamente, Kumar et al. hanno proposto un metodo quantitativo per determinare il grado di completezza di ICSR. A ciascuna voce della segnalazione è stato attribuito un peso diverso in base alla rilevanza delle informazioni associate. Il punteggio totale di completezza di un ICSR veniva poi calcolato sommando i singoli punteggi associati ad ogni campo della scheda di segnalazione. I campi considerati includevano il titolo della segnalazione, la gravità della reazione, la fonte primaria, le informazioni sul paziente, il sesso del paziente, la sezione di testo libero, il termine di reazione avversa, l'esito, il nome del prodotto sospetto, le informazioni sul farmaco, l'azione intrapresa, l'indicazione terapeutica, la data di insorgenza, la valutazione della causalità, la sezione di descrizione libera del caso e la conformità alle procedure operative standard interne [14].

Nel 2017, Plessis et al. hanno pubblicato uno studio per analizzare la qualità delle informazioni contenute nelle segnalazioni di ADR e per descrivere l'entità e le caratteristiche delle informazioni mancanti. A tal fine, hanno utilizzato una variante del punteggio VigiGrade dell'UMC combinata con un approccio più clinico e qualitativo [15]. Nel 2019, Niu et al. hanno pubblicato un'analisi sulla qualità delle segnalazioni spontanee di ADR provenienti da un centro di farmacovigilanza della Cina occidentale: hanno applicato il proprio sistema di valutazione per assegnare un punteggio a ciascun campo e calcolare il punteggio totale di ogni segnalazione, secondo un sistema analogo a VigiGrade. Esempi di campi analizzati sono l'età, il sesso, il nome e la nazionalità del paziente; il dosaggio del farmaco sospetto, la denominazione comune, la data di inizio e di fine terapia e il codice di autorizzazione all'immissione in commercio (AIC); la data di insorgenza dell'ADR, la descrizione dei sintomi; l'occupazione e i contatti del segnalatore e il tipo di segnalazione [16].

Obiettivo

Lo scopo di questo studio è quello di analizzare la qualità di un campione di ICSR e di esprimere questa valutazione quantitativamente assegnando a ciascuna scheda di segnalazione un punteggio numerico. È fondamentale sottolineare che in questo studio la qualità delle segnalazioni è definita come il grado di completezza con cui sono dettagliate, insieme alla rilevanza delle informazioni riportate per un corretto processo di valutazione della causalità.

Metodi

Utilizzando come punto di partenza gli studi e i metodi precedentemente sviluppati, è stato elaborato un algoritmo per valutare quantitativamente la qualità e la completezza delle segnalazioni di ADR. È stato calcolato un punteggio numerico sommando i singoli punteggi attribuiti al grado di completezza con cui sono stati compilati i diversi campi delle schede di segnalazione. Pertanto, prima di effettuare l'analisi del campione, i singoli campi sono stati valutati per il rispettivo impatto sul processo di valutazione del nesso di causalità. Sulla base di questa valutazione, ad ogni campo è stata associata una scala di valori numerici rappresentativi della completezza delle informazioni riportate e della rispettiva importanza per la valutazione della relazione causale farmaco-evento. In particolare, i campi delle segnalazioni di ADR sono stati suddivisi in tre categorie principali, alle quali è stata attribuita un'importanza diversa nella valutazione della causalità. I dettagli dei punteggi sono riportati nelle **Tabelle 1 e 2**.

Prima categoria

La prima categoria comprende le informazioni critiche per la valutazione del nesso di causalità, ovvero le date di inizio e fine della terapia con i prodotti sospetti, l'esito del dechallenge e del rechallenge e la data di insorgenza dell'ADR (**Tabella 1**). A seconda del livello di completezza, a questi parametri viene assegnato un punteggio di 10 (informazioni complete), 5 (informazioni non del tutto dettagliate) o 0 (informazioni sconosciute).

Tabella 1 Dettagli del punteggio.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO SOSPETTO			
Denominazione	Brand	Principio attivo	
Punteggio	6	0	
Data di inizio terapia	Dettagliato (GG-MMM-AAAA)	Non dettagliato (MMM-AAAA or AAAA)	Sconosciuto
Punteggio	10	5	0
Data di fine terapia	Dettagliato (GG-MMM-AAAA)	Non dettagliato (MMM-AAAA or AAAA)	Sconosciuto
Punteggio	10	5	0
Indicazione terapeutica	Dettagliato	Sconosciuto	
Punteggio	2	0	

>>> Segue

>>> Continua

Formulazione	Dettagliato	Sconosciuto	
Punteggio	2	0	
Via di somministrazione	Dettagliato	Sconosciuto	
Punteggio	2	0	
Dosaggio	Dettagliato	Sconosciuto	
Punteggio	2	0	
Posologia	Dettagliato	Sconosciuto	
Punteggio	2	0	
INFORMAZIONI SUL PAZIENTE			
Età	Dettagliato (età o data di nascita)	Non dettagliato (fascia d'età)	Sconosciuto
Punteggio	6	3	0
Sesso	Dettagliato	Sconosciuto	
Punteggio	6	0	
INFORMAZIONI SULLA REAZIONE AVVERSA			
Data di insorgenza	Dettagliato (GG-MMM-AAAA)	Non dettagliato (MMM-AAAA or AAAA)	Sconosciuto
Punteggio	10	5	0
Dechallenge	Dettagliato	NA/Sconosciuto	
Punteggio	10	0	
Rechallenge ^a	Dettagliato	NA/Sconosciuto	
Punteggio	10	0	
Outcome	Dettagliato	Sconosciuto	
Punteggio	2	0	
INFORMAZIONI SUL SEGNALE			
Categoria	Dettagliato	Non dettagliato ^b	
Punteggio	2	0	
FARMACI CONCOMITANTI, STORIA CLINICA, DATI CLINICI E DI LABORATORIO			
Farmaci concomitanti	<i>Il paziente non assume farmaci concomitanti</i>	Dettagliato	Sconosciuto
Punteggio	8	<i>Vedi Tabella 2</i>	0
Storia clinica	Dettagliato ^c	Sconosciuto	
Punteggio	6	0	
Dati di laboratorio e clinici	Dettagliato (con data e risultato)	Non dettagliato (solo data o solo risultato)	Sconosciuto
Punteggio	2	1	0

^a Applicabile solo quando è specificato l'esito del dechallenge; ^b per esempio "Altro HCP" or "HCP non specificato"; ^c 6 punti vengono assegnati anche se viene espressamente specificato che il paziente non ha o ha mai avuto altre condizioni cliniche rilevanti.

Tabella 2 Prodotti concomitanti.

INFORMAZIONI SUI PRODOTTI CONCOMITANTI			
Denominazione	Brand		Principio attivo
Punteggio	2		0
Data di inizio terapia	Dettagliato (GG-MMM-AAAA)	Non dettagliato (MMM-AAAA or AAAA)	Sconosciuto
Punteggio	2	1	0
Data di fine terapia	Dettagliato (GG-MMM-AAAA)	Non dettagliato (MMM-AAAA or AAAA)	Sconosciuto
Punteggio	2	1	0
Indicazione terapeutica	Dettagliato		Sconosciuto
Punteggio	2		0

La data di insorgenza della reazione e le date di inizio e fine della terapia sono essenziali perché permettono di stabilire la correlazione temporale tra assunzione del farmaco e l'ADR. La plausibilità dell'intervallo di tempo tra l'evento avverso e la somministrazione o la sospensione del farmaco deve essere valutata considerando la farmacocinetica del farmaco sospetto e i meccanismi patologici dell'evento avverso [9]. Per quanto riguarda le informazioni sul dechallenge e sul rechallenge del/i farmaco/i sospetto/i, la maggior parte degli studi precedenti sull'argomento non ha considerato questi parametri nella valutazione della completezza, perché non sempre sono applicabili. Tuttavia, questi parametri sono stati inclusi nel presente algoritmo perché, quando sono applicabili e riportati, forniscono una forte indicazione della correlazione causale tra il farmaco e l'evento. Non a caso, sono riportati in molti algoritmi utilizzati classicamente per la valutazione della causalità, come gli algoritmi di Naranjo e Jones [17].

Seconda categoria

Il secondo gruppo comprende informazioni significative per l'analisi del caso e comprende il nome del prodotto o dei prodotti sospetti, il sesso e l'età del paziente e la sua storia clinica. A seconda del livello di completezza, vengono assegnati punteggi di 6 (informazioni complete), 3 (informazioni non completamente dettagliate) o 0 (informazioni sconosciute) (**Tabella 1**). Il nome del brand del farmaco sospetto, oltre a essere utile per identificare in modo univoco il prodotto, è anche importante se si sospetta un possibile ruolo causale di uno degli eccipienti del medicinale. Il sesso e l'età del paziente sono dettagli altrettanto importanti perché strettamente correlati a specifiche caratteristiche fisiologiche e significativi dal punto di vista della gestione del segnale. Infatti, un segnale emerge anche quando vengono identificati nuovi gruppi a rischio [5]. L'importanza del ruolo della storia clinica è facilmente intuibile, poiché le condizioni cliniche concomitanti o storiche e i farmaci assunti in precedenza consentono di accertare la presenza o l'assenza di cause alternative. Un punteggio di 6 punti viene assegnato anche quando viene specificato che il paziente non ha patologie concomitanti o altre condizioni mediche, poiché questa informazione è ugualmente rilevante per la valutazione della causalità.

Terza categoria

La terza e ultima categoria, per le informazioni considerate rilevanti per la valutazione clinica ma non cruciali per la valutazione dell'ADR, contiene l'indicazione terapeutica del prodotto sospetto, la formulazione, la via di somministrazione, la dose, il dosaggio, l'esito dell'ADR, i dettagli del segnalatore, i dati di laboratorio e i dettagli sui farmaci concomitanti (nome del prodotto, data di inizio della terapia, data di fine della terapia, indicazione terapeutica). A seconda del livello di completezza, a questi parametri vengono assegnati punteggi di 2 (informazioni complete), 1 (informazioni non completamente dettagliate) o 0 (informazioni sconosciute) (**Tabella 1 e 2**).

Spiegazioni alternative per l'insorgenza della reazione osservata possono infatti emergere dall'indicazione terapeutica per cui il farmaco è stato assunto, in quanto l'ADR può essere un aspetto della patologia trattata. Le stesse osservazioni valgono per i farmaci concomitanti e l'indicazione terapeutica per cui sono stati somministrati. Inoltre, i dettagli sui farmaci concomitanti sono fondamentali per una corretta valutazione della possibile presenza di interazioni farmacologiche in caso di politerapia. Quando viene esplicitamente dichiarato che il paziente non sta assumendo farmaci concomitanti, è stato deciso di assegnare 8 punti, un punteggio pari alla somma dei punteggi più alti ottenibili per ogni campo correttamente compilato nel caso di farmaci concomitanti specificati. Infatti, le informazioni sulla confermata assenza di farmaci concomitanti sono altrettanto utili per la valutazione del nesso di causalità quanto i dettagli completi sulla presenza di farmaci concomitanti. I dati di laboratorio e le misurazioni cliniche, se dettagliate, contribuiscono alla corretta valutazione clinica della reazione avversa. Infine, la formulazione, la via di somministrazione, la dose, il dosaggio, l'esito dell'ADR e i dettagli del segnalatore sono aspetti aggiuntivi utili, ma non strettamente necessari per il processo di valutazione della causalità (**Tabella 1**).

Analisi di un campione di ICSR

L'algoritmo è stato testato sulle segnalazioni di ADR raccolte dalla Rete Nazionale di Farmacovigilanza italiana per i farmaci di proprietà aziendale "Ibuprofene", "Amoxicillina e Acido Clavulanico", "Amoxicillina" e "Atorvastatina" (ICSR riportati come brand di titolarità aziendale o come principio attivo). I criteri utilizzati per la selezione delle segnalazioni analizzate sono stati i seguenti: segnalazioni ricevute tra il 30 giugno 2021 e il 30 giugno 2022, per i prodotti sopra citati, per i quali la titolarità aziendale era confermata o possibile. Sono state analizzate 609 segnalazioni di ADR: 149 si riferivano all'Amoxicillina (Amoxicillina Mylan, Amoxicillina NOS) come farmaco sospetto, 52 all'Amoxicillina/Acido clavulanico (Amoxicillina/Acido clavulanico Mylan, Amoxicillina/Acido clavulanico NOS), 110 per Atorvastatina (Atorvastatina Mylan, Atorvastatina NOS) e 298 per Ibuprofene (Ibuprofene Mylan, Brufen, Ibuprofene NOS). Per ogni modulo di segnalazione, è stato calcolato un punteggio complessivo risultante dalla somma dei singoli punteggi assegnati a ciascun campo del modulo di segnalazione, in base all'importanza relativa attribuita a ciascuna informazione riportata. Se erano segnalati più farmaci sospetti e/o più farmaci concomitanti, è stato calcolato un punteggio per ogni campo pertinente, calcolando la media dei punteggi per ogni diverso farmaco. Per esempio, se erano segnalati tre farmaci sospetti, il punteggio assegnato al campo "indicazione" è pari alla media dei tre punteggi riportati per l'indicazione di ciascun farmaco sospetto. Lo stesso approccio deve essere applicato se viene segnalata più di una reazione avversa.

Secondo l'algoritmo sopra descritto, il punteggio totale di una segnalazione di ADR può variare tra un valore minimo di 0 e un valore massimo di 98 punti. In base al punteggio totale ottenuto, le segnalazioni di ADR analizzate sono state suddivise in "scarsamente documentate", con punteggio compreso tra 0 e 32 punti, "moderatamente documentate", con punteggio compreso tra 33 e 65 punti, e "ben documentate", con punteggio compreso tra 66 e 98 punti.

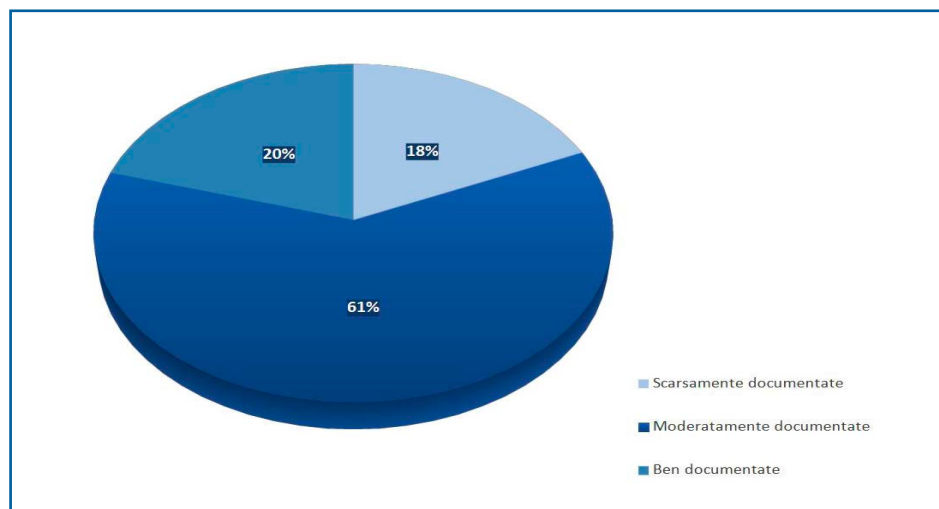
Le variabili categoriche sono state comparate utilizzando il test del Chi quadro (χ^2). Le analisi sono state svolte utilizzando la funzione Chi quadro di Excel. Un p value $\leq 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

Risultati

L'analisi ha mostrato che, delle 609 schede analizzate, 111 (18,23%) erano scarsamente documentate, 374 (61,41%) erano moderatamente documentate e 124 (20,36%) erano ben documentate (**Figura 1**).

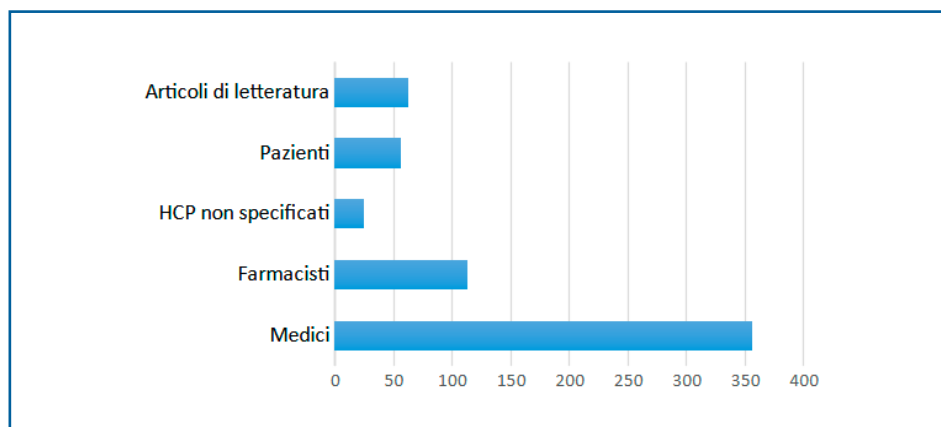
Il valore medio del punteggio totale era di 50,56 punti, mentre i valori minimo e massimo calcolati per il campione erano rispettivamente 3 e 80 punti. La moda era 66 punti, mentre la mediana 54 punti. (Per ulteriori dettagli sulla valutazione dei dati si rimanda all'**Appendice 1**).

Figura 1 Analisi dei punteggi ottenuti.



Il campo con il più alto grado di completezza è stato quello relativo al sesso del paziente (99,18%), mentre il campo con il maggior numero di dati mancanti è stato l'esito del dechallenge del farmaco (menzionato solo in un report, 0,16%). Per quanto riguarda i segnalatori, sono state identificate cinque categorie: medici (58,29%), farmacisti (18,39%), operatori sanitari (HCP) non specificati (3,94%), pazienti (9,20%) e articoli di letteratura (10,18%) (**Figura 2**).

Figura 2 Categorie di segnalatori (N segnalazioni).



Il grado di completezza più elevato è stato riscontrato nelle segnalazioni registrate dai farmacisti, seguiti dai medici, per i quali sono stati riscontrati punteggi superiori alla media (punteggio medio per le segnalazioni dei medici 54,38; punteggio medio per i farmacisti 57,14). D'altra parte, sono stati riscontrati punteggi inferiori alla media per la categoria "professionisti sanitari non specificati" (punteggio medio 49,58), seguita dal gruppo "pazienti" (punteggio medio 45,57). Valori significativamente più bassi sono stati invece calcolati per le segnalazioni provenienti da articoli di letteratura scientifica (valore medio 21,55) (χ^2 ; $p=0,001$). Considerando la gravità delle ADR, non sono stati riscontrati punteggi significativamente più alti per le segnalazioni con ADR gravi (277 segnalazioni, 45,48%; valore medio: 50,83) rispetto alle segnalazioni con ADR non gravi (332 segnalazioni, 54,52%; valore medio: 50,25) (χ^2 ; $p=0,954$).

Discussione

La qualità e la completezza degli ICSR sono caratteristiche essenziali per la corretta identificazione dei segnali di sicurezza e quindi per le procedure di gestione del segnale. Oltre al livello minimo di informazioni che devono essere identificate per la segnalazione di una reazione avversa a un farmaco (un paziente, una reazione, un farmaco sospetto e un segnalatore [10]), per consentire un'adeguata valutazione della causalità dell'associazione tra il farmaco sospetto e l'evento avverso, è necessario garantire il massimo livello di completezza e accuratezza in tutte le parti della segnalazione. L'analisi ha mostrato che solo un quinto delle segnalazioni era ben documentato, suggerendo che il raggiungimento di standard qualitativi più elevati richiede ancora miglioramenti da diversi punti di vista.

Le differenze osservate nella completezza a seconda del tipo di segnalatore sono in linea con quanto atteso: in generale, è plausibile che le segnalazioni provenienti dagli operatori sanitari, grazie alla loro esperienza e alle loro conoscenze scientifiche, abbiano una qualità superiore rispetto a quelle provenienti dai pazienti. D'altra parte, per quanto riguarda gli articoli di letteratura, un punteggio così basso può essere almeno in parte spiegato considerando che i casi clinici spesso non vengono pubblicati in letteratura allo scopo di fornire segnalazioni di farmacovigilanza e di conseguenza di solito non riportano dettagli che sarebbero importanti per la corretta gestione delle attività di farmacovigilanza. Kelly et al. hanno pubblicato un'analisi sulle lacune delle segnalazioni di ADR in letteratura, insieme ad alcune linee guida da seguire per la pubblicazione di segnalazioni complete [18].

Limiti dello studio

Questo studio presenta alcune limitazioni. Anzitutto, è stato condotto su un campione ristretto della totalità delle segnalazioni ricevute nell'arco di tempo selezionato, e i principi attivi selezionati per l'analisi sono stati scelti per l'elevato numero di segnalazioni in cui sono menzionati, e ciò potrebbe aver determinato un bias di selezione. Di conseguenza, le considerazioni finali fatte per questa analisi non possono essere direttamente generalizzate. Un altro aspetto da considerare è la possibilità di attribuire pesi diversi a seconda del tipo di segnalatore. Nel presente studio, per le informazioni sul segnalatore è stato scelto un punteggio da 0 a 2, solo in base al grado di dettaglio con cui è stata indicata la sua qualifica. Potrebbe invece essere utile fare una distinzione in termini di punteggio tra HCP e pazienti, considerando che è plausibile che un paziente non sia in grado di determinare, ad esempio, quali prodotti siano da considerare co-sospetti o concomitanti, con la stessa accuratezza di un HCP. Inoltre, a causa della mancanza di una approfondita validazione clinica e statistica di questo algoritmo, questo deve essere considerato come un punto di partenza per lo sviluppo di un metodo di punteggio facilmente generalizzabile per valutare il grado di completezza delle segnalazioni di ADR.

Infine, l'algoritmo proposto si concentra principalmente sui campi di dati strutturati, ma considerando i recenti sviluppi nell'applicazione dell'Intelligenza Artificiale e dei metodi computazionali alla farmacovigilanza, si può ipotizzare che in futuro sarà possibile valutare anche le informazioni riportate nei campi di testo libero in modo abbastanza immediato, automatizzando l'estrazione delle caratteristiche chiave dalle sezioni di testo utilizzando metodi di NLP (*Natural Language Processing*) [19, 13].

Considerando il contesto generale in cui questo tipo di algoritmo è applicabile, è altrettanto importante non trascurare una limitazione intrinseca del processo di valutazione della causalità, ovvero che questa attività viene svolta su segnalazioni di ADR in cui la fonte è già stata elaborata, con un'attività preliminare di valutazione della causalità effettuata dal segnalatore. Questa fase intermedia di elaborazione della fonte di segnalazione originale può introdurre un bias dovuto alla potenziale inaccuratezza della codifica di alcune informazioni (ad esempio, l'identificazione dei farmaci sospetti e concomitanti) e a possibili errori di trascrizione.

Conclusioni

Il presente studio ha dimostrato che la qualità delle segnalazioni di ADR non ha ancora raggiunto un livello adeguato. Sebbene nel tempo si siano registrati miglioramenti, è fondamentale che questo processo di implementazione continui verso standard più elevati.

In attesa di ulteriori sviluppi in questo campo, potrebbe essere utile indagare se algoritmi come quello proposto in questo studio possano essere applicati per effettuare una selezione preliminare tra le segnalazioni di ADR da utilizzare per l'analisi statistica con metodi di disproporzionalità durante la rilevazione del segnale. Attualmente, questi metodi statistici vengono applicati alla totalità delle ADR segnalate, indipendentemente dal livello di completezza e adeguatezza dei dettagli forniti. Per effettuare un'analisi del segnale più accurata e precisa, tuttavia, potrebbe essere utile escludere le segnalazioni scarsamente documentate. Sarebbe quindi interessante valutare l'eventuale variazione degli indicatori di disproporzionalità nel caso in cui vengano escluse dall'analisi del segnale le segnalazioni con un livello di completezza e accuratezza inadeguato.

Infine, per garantire un adeguato livello di completezza nella segnalazione delle ADR, è essenziale che le persone coinvolte nel processo siano consapevoli dell'importanza della farmacovigilanza e delle informazioni chiave da riportare per un'adeguata valutazione clinica delle segnalazioni. Per migliorare la qualità e la completezza dei dati sulle ADR, è necessaria quindi un'efficiente interazione con le figure coinvolte, che può essere semplificata attraverso una visualizzazione numerica diretta dei risultati [13]. A tal fine, lo sviluppo di un metodo di punteggio accurato e facile da applicare deve essere considerato il primo obiettivo da affrontare.

Bibliografia

- [1] European Medicines Agency. Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP): module V: risk management systems (Rev 2). http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/06/WC500129134.pdf (2017). Accessed 22 Jan 2023.
- [2] World Health Organization. Pharmacovigilance. <https://www.who.int/teams/regulation-prequalification/pharmacovigilance>. Accessed 22 Jan 2023.
- [3] Santoro A, Genov G, Spooner A, Raine J, Arlett P. Promoting and Protecting Public Health: How the European Union Pharmacovigilance System Works. *Drug Saf.* 2017; 40(10): 855-869.
- [4] Alomar M, Tawfiq AM, Hassan N, Palaian S. Post marketing surveillance of suspected adverse drug reactions through spontaneous reporting: current status, challenges and the future. *Ther Adv Drug Saf.* 2020; 11: 2042098620938595.
- [5] European Medicines Agency. Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP): Module IX – Signal management (Rev 1). https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-good-pharmacovigilance-practices-gvp-module-ix-signal-management-rev-1_en.pdf. Accessed 22 Jan 2023.
- [6] Questions & answers on signal management, Inspections and Human Medicines Pharmacovigilance Division, EMA/261758/2013 Rev 3 (2018)
- [7] Hauben M, Aronson JK. Gold standards in pharmacovigilance: the use of definitive anecdotal reports of adverse drug reactions as pure gold and high-grade ore. *Drug Saf.* 2007; 30(8): 645-655.
- [8] Khan LM, Al-Harhi SE, Osman AM, Sattar MA, Ali AS. Dilemmas of the causality assessment tools in the diagnosis of adverse drug reactions. *Saudi Pharm J.* 2016 Jul; 24(4): 485-493.
- [9] Ralph Edwards I. Causality Assessment in Pharmacovigilance: Still a Challenge. *Drug Saf.* 2017; 40(5): 365-372.
- [10] European Medicines Agency. Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP): Module VI – Collection, management, and submission of reports of suspected adverse reactions to medicinal products (Rev. 2) https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/guideline-good-pharmacovigilance-practices-gvp-module-vi-collection-management-submission-reports_en.pdf (2017) Accessed 22 Jan 2023.
- [11] Agbabiaka, Taofikat B. et al. The Development of a Tool to Assess the Quality of Case Reports of Adverse Events. *International Journal of Risk & Safety in Medicine* 20. 2008; 123-133.
- [12] Tuccori M, Giustarini G, Blandizzi C et al (2013) Quality of Adverse Drug Reaction (QADRA) reports: an algorithm to appraise the efficiency of spontaneous reporting systems in pharmacovigilance. *J Public Health.* 21: 365-372.
- [13] Bergvall T, Norén GN, Lindquist M. vigiGrade: a tool to identify well-documented individual case reports and highlight systematic data quality issues [published correction appears in *Drug Saf.* 2019 Mar 12;]. *Drug Saf.* 2014; 37(1): 65-77.
- [14] Kumar R, Kumar P, Kalaiselvan V, Kaur I, Singh GN. Best Practices for Improving the Quality of Individual Case Safety Reports in Pharmacovigilance. *Ther Innov Regul Sci.* 2016; 50(4): 464-471.
- [15] Plessis L, Gómez A, García N, Cereza G, Figueras A. Lack of essential information in spontaneous reports of adverse drug reactions in Catalonia-a restraint to the potentiality for signal detection. *Eur J Clin Pharmacol.* 2017; 73(6): 751-758.
- [16] Niu R, Xiang Y, Wu T, Zhang Z, Chen Y, Feng B. The quality of spontaneous adverse drug reaction reports from the pharmacovigilance centre in western China. *Expert Opin Drug Saf.* 2019; 18(1): 51-58.
- [17] Kane-Gill SL, Forsberg EA, Verrico MM, Handler SM. Comparison of three pharmacovigilance algorithms in the ICU setting: a retrospective and prospective evaluation of ADRs. *Drug Saf.* 2012; 35(8): 645-653.
- [18] Kelly WN, Arellano FM, Barnes J, et al. Guidelines for submitting adverse event reports for publication. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2007; 16(5): 581-587.
- [19] Ball R, Dal Pan G. "Artificial Intelligence" for Pharmacovigilance: Ready for Prime Time?. *Drug Saf.* 2022; 45(5): 429-438.



Master in FARMACOVIGILANZA

anno accademico 2022-2023

UN NUOVO PROCESSO PER STIMARE LA POPOLAZIONE ESPOSTA AI FARMACI TOPICI: DUE ESEMPI

A new process to estimate the population exposed to topicals: two examples

Ivan Corsetti, Kristin Felke, Petra Gerecke

Progetto di stage svolto presso Mibe Pharma Italia, Milano

Keywords

PSUR
patient exposure
estimate

Abstract

Introduction Monitoring the safety of a medicine once it is on the market is the cornerstone of pharmacovigilance. Directive 2010/84/EU and Guideline on Good pharmacovigilance practices require Periodic Safety Update Reports to include an accurate estimate of the population exposed to the medicinal product including a brief description of the method(s) used to generate such estimate.

Objectives To create a replicable process that, based on registration and literature data, allows to build a valid estimator of the population exposed starting from sales data.

Methods and Results We apply a step process consisting of the search of literature references with defined keywords, the extension of such research to online literature and the combination of all relevant information to build an estimator. We present the examples of amorolfine nail lacquer, used to treat nail onychomycoses, and of calcipotriol/betamethasone gel and ointment for the topical treatment of psoriasis.

Conclusion The suggested process allows to satisfy the requirements providing both an accurate estimate and the method used.

Introduzione

Il monitoraggio della sicurezza del medicinale una volta immesso sul mercato è una pietra miliare della farmacovigilanza [1]. La raccolta e la segnalazione delle sospette reazioni avverse (ADR) derivanti dall'uso dei medicinali è una fonte essenziale di nuove informazioni e persegue gli obiettivi di farmacovigilanza [2]. Le segnalazioni spontanee rappresentano la prima linea di evidenza e la maggior parte dei segnali di sicurezza si basa su di esse [3]. Tuttavia, la rivalutazione del rapporto rischio/beneficio non è generalmente possibile per ogni singola ADR [4].

I rapporti periodici di aggiornamento sulla sicurezza (PSUR) sono documenti di farmacovigilanza destinati a fornire una valutazione del rapporto rischio/beneficio di un medicinale in determinati momenti dopo la sua autorizzazione, tenendo conto di nuove

o emergenti informazioni sulla sicurezza. I titolari delle Autorizzazioni all'Immissione in Commercio (titolari AIC) sono legalmente tenuti a presentare i PSUR; Il modulo VII delle GVP fornisce indicazioni sulla preparazione, la presentazione e la valutazione dei PSUR [5].

Dal 2011 c'è stato un cambiamento significativo nel modo in cui sono allestiti i PSUR in quanto la nuova legislazione richiede una valutazione scientifica del rapporto beneficio/rischio del medicinale [2]. La direttiva 2010/84/UE richiede che i PSUR contengano dati relativi al volume delle vendite, con una stima della popolazione esposta al medicinale [6]. Il modulo VII delle GVP specifica che questa stima debba essere accurata e includere una breve descrizione del metodo o dei metodi utilizzati unitamente ai loro limiti [7].

All'interno del PSUR, per comprendere l'impatto di un evento sul profilo di sicurezza, vengono solitamente utilizzate le frequenze. Le frequenze derivano dal numero di eventi avversi diviso per la popolazione totale. Questa è certa in ambienti circoscritti, quali gli studi clinici, ma per il medicinale che è sul mercato questo denominatore può essere solo derivato. La stima dell'esposizione dei pazienti è quindi essenziale per bilanciare le informazioni contenute nel PSUR e in ultima analisi per valutare il profilo di sicurezza complessivo del prodotto. Durante il post-marketing sono disponibili i dati di vendita e da questi viene stimata la popolazione esposta al medicinale. La correlazione tra questi due dati è evidente anche nella direttiva e nelle GVP.

La dose giornaliera definita (*Defined Daily Dose* o DDD) può essere utilizzata per stimare la popolazione esposta [4], utilizzandola direttamente come dividendo dai dati di vendita. La DDD è un'unità di misura tecnica stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità e rappresenta la presunta dose giornaliera media di mantenimento per un farmaco utilizzato nella sua indicazione principale negli adulti. Va tenuto conto del fatto che le DDD sono state ideate per rendere comparabili a livello internazionale i dati sull'utilizzo dei farmaci e che l'uso effettivo del medicinale in un determinato paese o area geografica può differire. Le DDD non sono stabilite per i prodotti topici [9], caratterizzati dall'applicazione di una quantità variabile in base all'estensione, alla gravità e alla possibile recidiva della malattia.

È opportuno sottolineare che una sovrastima dei pazienti esposti porta ad una sotto-stima del rischio abbassando la frequenza attribuita all'evento specifico. Alla luce di ciò la sovrastima dovrebbe essere considerata come lo scenario "*worst-case*" per la sicurezza.

Obiettivo

L'obiettivo del progetto è stato quello di strutturare un processo per stimare con accuratezza l'esposizione dei pazienti dai dati di vendita, soddisfacendo i requisiti normativi. Il processo aggrega le quantità medie consumate di prodotto da diverse fonti e le utilizza per calcolare la stima. Presentiamo due esempi di medicinali topici e i relativi stimatori che abbiamo elaborato. Questa esperienza ci ha permesso di suggerire un processo a step replicabile per altri medicinali.

Metodi

Per acquisire i dati di consumo nel mondo reale abbiamo fatto riferimento alla documentazione interna ed esterna cioè al dossier registrativo e alla letteratura scientifica. Per la documentazione interna abbiamo inizialmente adottato un approccio estensivo vagliando tutte le sezioni del dossier che potessero contenere informazioni utili. I moduli 2.5 "*Clinical Overview*" e 2.7 "*Clinical Summary*" descrivono e spiegano l'approccio generale allo sviluppo clinico e forniscono una sintesi dettagliata e fattuale di tutte le informazioni cliniche contenute nel dossier. Le sezioni di qualità 3.2.P.1 "*Description and Composition of the Drug Product*", 3.2.P.2 "*Pharmaceutical Development*" e 3.2.P.7 "*Container Closure System*" contengono informazioni sul confezionamento proposto per l'Autorizzazione all'Immissione in Commercio e possono potenzialmente includere una spiegazione per tale scelta. I moduli 4 "*Nonclinical Study Reports*" e 5 "*Clinical Study Reports*" contengono tutte le referenze cliniche e non cliniche e possono comprendere studi non pubblicati o non disponibili. A seguito dell'esperienza maturata nell'esempio 1 è stato deciso, per il successivo esempio, di esaminare il solo modulo 5, ritenuto la fonte pertinente di tutte le informazioni utili.

Per la documentazione esterna, lo scopo è stato identificare le referenze di letteratura

contenenti informazioni sul consumo del medicinale, per esempio durante uno studio nel quale questo parametro veniva registrato, oltre che dati riguardanti schemi di utilizzo, estensione media della malattia e analisi farmaco-economiche dalle quali fosse possibile derivare la quantità di prodotto utilizzato.

Per semplificare la ricerca della letteratura online abbiamo utilizzato le referenze già individuate all'interno del dossier registrativo cercandole nuovamente nel database Medline. In questo modo abbiamo potuto individuare e selezionare i termini MeSH. Il *Medical Subject Headings* (MeSH) è un vocabolario per indicizzare gli articoli scientifici utilizzato nel database MEDLINE/PubMed. I suoi termini possono essere aggiunti ad una stringa di ricerca, semplificandone l'elaborazione.

Nel primo esempio tutte le referenze sono state lette nella loro interezza da un essere umano con un approccio molto dispendioso in termini di tempo. Tuttavia questo ci ha permesso di estrarre alcune parole chiave (keyword) che abbiamo utilizzato per strutturare una ricerca computer-assistita e un processo più veloce. Abbiamo selezionato parole chiave in inglese di conseguenza solo le referenze in questa lingua sono state vagliate da software. Per i documenti non digitali (o non digitalizzati) e non in lingua inglese si è continuato ad effettuare la lettura analogicamente. Per l'analisi computer-assistita abbiamo utilizzato Adobe Acrobat, che permette di ricercare più parole chiave in diversi documenti contemporaneamente. Tramite questa ricerca è stato possibile selezionare le referenze con corrispondenze per le parole chiave. Per ogni corrispondenza è stata verificata la presenza di un dato di interesse.

Una volta estratte le referenze contenenti informazioni utili, queste sono state controllate per verificare che non fossero duplicate o che il dato non facesse riferimento ad altra referenza, al fine di evitare la moltiplicazione della medesima informazione.

Le referenze selezionate hanno richiesto un'attenta lettura, con particolare focus ai criteri di inclusione, le caratteristiche della popolazione e l'intervento, parametri che costituiscono informazioni di base per l'elaborazione dello stimatore. Abbiamo preferito dati provenienti da studi con una popolazione ampia e quando veniva individuata una discrepanza (ad esempio studi simili con quantità diversa di prodotto consumato) è stato selezionato il dato che avrebbe portato a una minor popolazione esposta, seguendo l'approccio dello scenario migliore.

Successivamente abbiamo incrociato le informazioni raccolte con le indicazioni terapeutiche del prodotto. Questo ha permesso di escludere alcuni dati (ad esempio studi off-label). L'unione di tutte queste informazioni ha reso possibile elaborare lo stimatore, che costituisce dunque uno strumento prodotto-specifico.

Il processo a step è schematizzato di seguito:

1. Raccogliere le referenze cliniche dal modulo 5 del dossier
2. Suddividere le referenze in base a:
 - a. Studi non leggibili da software (solitamente scansioni)
 - b. Studi non in inglese
 - c. Tutti gli altri studi
3. Leggere le referenze dei gruppi a) e b). Per il gruppo c) seguire il passaggio 4
4. Cercare tramite software tutti i file usando le parole chiave: "last", "consumed", "duration of treatment", "mean quantity", "mean number", "average", "mean amount", "per patient", "[pharmaceutical form]", "[pack type]", "quantity required", "quantity of", "a mean", "allowed for", "treatment period", "applied on average"
 - a. Possono essere aggiunte altre parole chiave sulla base dei risultati
5. Per ogni articolo selezionato nei passaggi precedenti, effettuare una ricerca in PubMed ed estrarre i termini MeSH Medline
6. Utilizzare i termini MeSH appropriati per scrivere una stringa di ricerca in PubMed
7. Analizzare i risultati di PubMed
8. Effettuare la stessa ricerca tramite software del passaggio 4
9. Schematizzare i risultati
10. Elaborare uno stimatore

Esempio 1: smalto per unghie a base di amorolfina

Lo smalto per unghie a base di amorolfina è indicato per trattare l'onicomicosi, una comune infezione fungina che colpisce l'unghia. La combinazione di micosi e struttura dell'unghia, compreso il suo ritmo di crescita, determina lunghi periodi di trattamento. Gli smalti sono indicati quando la matrice ungueale non è coinvolta, l'infezione colpi-

sce meno del 50% della superficie dell'unghia e meno di 3 unghie. Nelle manifestazioni più gravi lo smalto può essere aggiunto alla terapia sistemica.

È comune che l'infezione si diffonda alle unghie prossimali o ad altri membri della stessa famiglia quando non riconosciuta o trattata tempestivamente. Inoltre alcune condizioni mediche come *tinea pedis*, diabete e malattia vascolare periferica sono noti fattori di rischio per lo sviluppo di onicomicosi e il tasso di recidiva della malattia varia dal 6,5 al 53%.

Documentazione interna

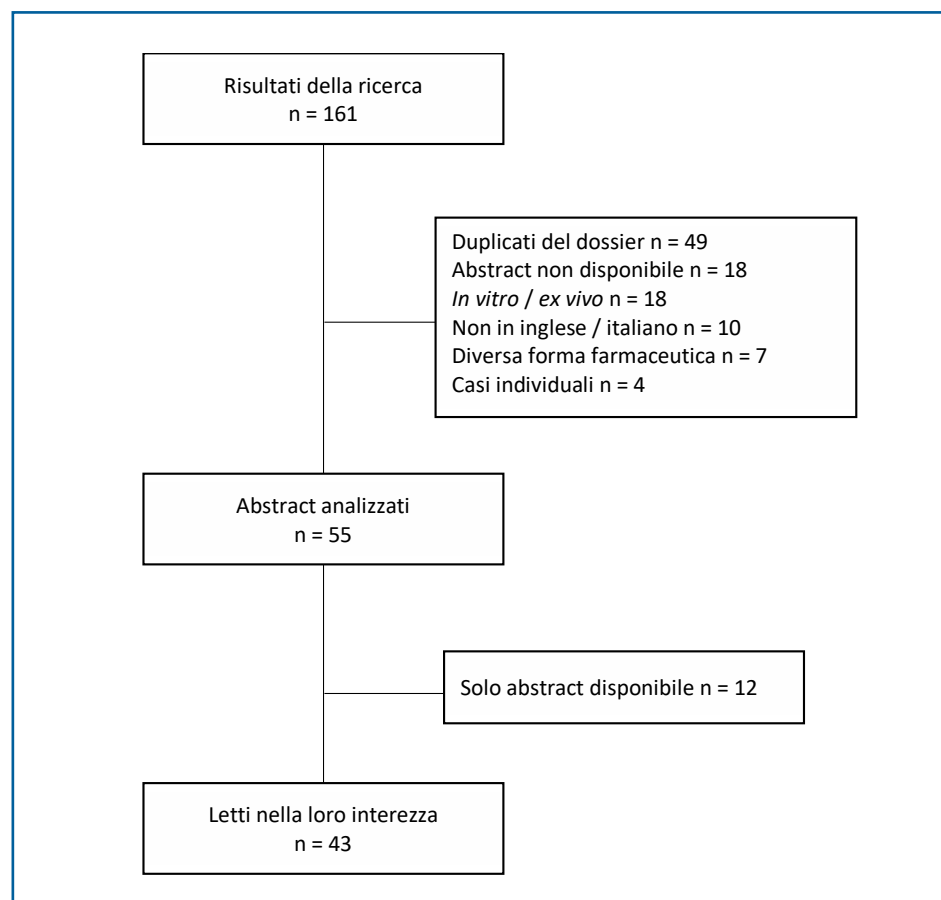
Abbiamo analizzato il contenuto del dossier registrativo come specificato nella sezione precedente. Nei moduli 2 e 3 non sono state trovate informazioni di interesse ma, poiché la domanda di autorizzazione si basava su un medicinale di riferimento, questo non ci ha sorpreso: in questi casi il titolare AIC presenta solitamente le stesse confezioni già autorizzate per il prodotto di riferimento senza necessità di fornire una giustificazione. L'unica referenza con informazioni di interesse tra i 47 studi del modulo 4 era il rapporto di valutazione pubblica (PAR) del prodotto di riferimento incluso anche nel modulo 5. Su 85 documenti vagliati nel modulo 5, abbiamo trovato corrispondenze in 15.

Fonti esterne

Sulla base dei risultati ottenuti dalla fase precedente abbiamo cercato ulteriori PAR; ne sono stati trovati 7 in un database pubblico ma nessuno conteneva informazioni utili. Poiché una delle corrispondenze nel modulo 5 era una revisione Cochrane "*Topical treatments for fungal infections of the skin and nails of the foot*" [8], abbiamo verificato l'esistenza di una versione aggiornata e l'abbiamo trovata sotto il titolo "*Topical and device-based treatments for fungal infections of the toenails*" [9].

Ricercando le referenze del modulo 5 in Pubmed, abbiamo estratto i termini MeSH appropriati, utilizzandoli per costruire la seguente stringa di ricerca: *Amorolfine AND*

Figura 1
Esempio 1 - Risultati
della ricerca e screening.



("Antifungal Agents/administration and dosage"[Mesh] OR "Antifungal Agents/economics"[Mesh] OR "Onychomycosis/classification"[Mesh] OR "Onychomycosis/drug therapy"[Mesh] OR "Onychomycosis/economics"[Mesh] OR "Onychomycosis/epidemiology"[Mesh] OR "Drug Costs"[Mesh] OR "Cost-Benefit Analysis"[Mesh] OR "Treatment Outcome"[Mesh] OR "Drug Administration Schedule"[Mesh]).

Questa stringa di ricerca ha generato 161 record.

L'attività di screening di questi record è schematizzata nella **Figura 1**.

Esempio 2: gel e unguento di calcipotriolo/betametasona

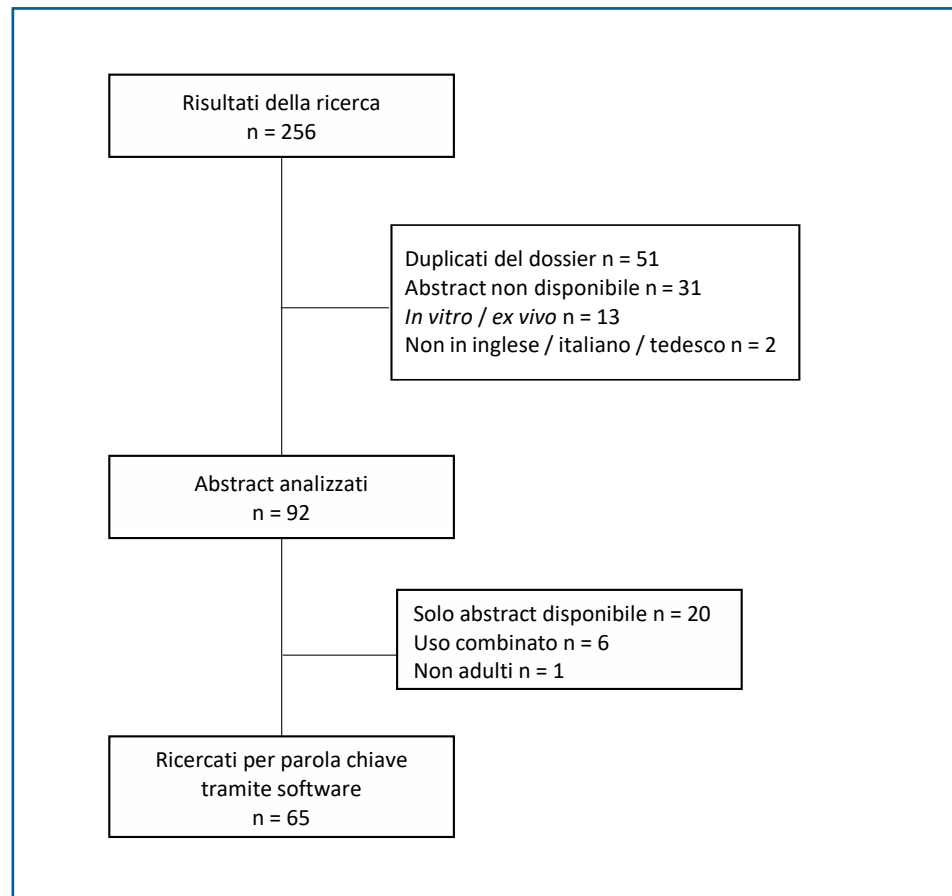
La combinazione calcipotriolo/betametasona è indicata per il trattamento topico della psoriasi a placche. La combinazione è disponibile in diverse forme farmaceutiche. Il periodo di trattamento raccomandato varia in base alla localizzazione della placca (cuoio capelluto, altre aree). La psoriasi è una malattia cronica recidivante quindi i periodi di trattamento si alternano a periodi di remissione in modo ciclico.

La formulazione in gel è stata sviluppata per trattare l'area del cuoio capelluto senza l'untuosità dell'unguento. Entrambi i prodotti possono essere utilizzati per trattare al massimo il 30% della superficie corporea senza superare i 15 g al giorno.

Fonti interne ed esterne

Abbiamo esaminato il modulo 5 *Clinical Study Reports* di tre dossier (due riguardanti una formulazione in unguento e uno in gel). In totale sono stati trovati 213 articoli. Alcune referenze erano in comune tra i dossier unguento e il dossier gel, per un totale di 96 articoli univoci. Questi sono stati controllati per il testo digitale/digitalizzato (leggibile da software) e la lingua inglese: 3 referenze erano in tedesco e 10 non erano leggibili dal computer; questi 13 riferimenti sono stati letti interamente da una persona. I restanti 83 articoli sono stati ricercati tramite software come specificato nella sezione precedente, secondo le parole chiave: "last", "consumed", "duration of treatment", "mean quantity", "mean number", "average", "mean amount", "per patient", "[phar-

Figura 2
Esempio 2 - Risultati
della ricerca e screening.



maceutical form]", "[pack type]", "quantity required", "quantity of", "a mean", "allowed for", "treatment period", "applied on average". Il termine "last" ha generato molti risultati ma è stato ritenuto necessario per evitare la perdita di informazioni utili. 20 referenze su 83 hanno avuto una o più corrispondenze positive alle parole chiave. Da queste abbiamo effettuato la ricerca in Pubmed e siamo stati in grado di estrarre i termini MeSH pertinenti.

Un termine in particolare ("betamethasone dipropionate, calcipotriol drug combination"[nm]) definisce esattamente il prodotto del nostro esempio, ma risultava indicizzato per un solo studio. Abbiamo quindi deciso di combinare i termini più estesi "calcipotriene"[nm] e "betametasone"[nm].

La stringa di ricerca finale è stata: (((*"calcipotriene"*[nm]) AND (*"Betamethasone"*[nm])) OR (*"betamethasone dipropionate, calcipotriol drug combination"*[nm])) AND (*"Drug Administration Schedule"*[MeSH]) OR (*"Psoriasis/drug therapy"*[MAJR]))

Il database ha restituito 256 record. Le analisi sono schematizzate nella **Figura 2**.

Risultati

Esempio 1

I risultati dell'esempio effettuato con lo smalto medicato di amorolfina sono riassunti nella **Tabella 1**.

Dalle informazioni bibliografiche siamo stati in grado di definire alcune caratteristiche di base del trattamento con amorolfina e di assegnare i pazienti a 3 diversi gruppi (lieve, moderato, grave). Abbiamo considerato che il 60% dei pazienti [A] avesse 1 o 2 unghie affette [gruppo lieve] (Reinel 1992b [24], Lauharanta 1992 [18]) sebbene in contrasto con Zaug 1992 [30] e Shemer 2017 [27] che riportano 3 e 2,4 unghie affette, rispettivamente, su popolazioni di pazienti elevate ma fornendo solo il valore medio. Tuttavia, abbiamo impostato il valore sull'intervallo più alto (2 unghie) per cadere nello scenario *best-case* corrispondente a un minor numero di pazienti esposti [B]. Si è ritenuto che l'onicomicosi moderata interessasse il 26% [A] dei pazienti (Reinel 1992b [24]) e coinvolgesse 4 unghie [B] [gruppo moderato]. Il 14% di pazienti restanti [A] è stato incluso nel gruppo grave, con una media di 5,9 unghie [B] (Baran 2000 [12], Sigurgeisson 2016 [29]).

Il periodo di trattamento [C] secondo il Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto (RCP) è di 6 mesi per le unghie delle mani e di 9-12 mesi per le unghie dei piedi. Nello studio di Reinel 1992b [24], il 27% dei pazienti presentava onicomicosi sulla mano, il 68% sui piedi e il 5% su entrambe le sedi. Abbiamo considerato tutti i pazienti con malattia sulle unghie delle mani come aventi 1 o 2 unghie affette e li abbiamo assegnati al gruppo lieve come sopra definito. Abbiamo inserito un periodo di trattamento di sei mesi al 27% del gruppo lieve e 12 mesi al 68% dello stesso gruppo di gravità per un periodo di trattamento medio finale di 10,29 mesi. Per la manifestazione moderata abbiamo mantenuto il periodo massimo di trattamento di 12 mesi mentre per il gruppo grave lo abbiamo esteso a 15 mesi in accordo a Baran 2001 [13]. La quantità di applicazioni (per unghia) effettuabili con un millilitro di smalto era coerente intorno al valore di 50 (Marty 2005 [21], Lambert 2003 [17], Schaller 2015 [26]) con solo il PAR [22] ad un valore sensibilmente inferiore. Poiché tale PAR si basa esclusivamente sulla dichiarazione del titolare del prodotto è stato escluso.

Alti tassi di recidiva sono ampiamente menzionati in letteratura ma non sono quantificati, probabilmente per le difficoltà di follow-up dei pazienti per più anni. Solo una referenza (Sigurgeisson 2010 [28]) fornisce dati sul tasso di recidiva. Sebbene in questo studio il criterio di inclusione fosse una precedente terapia per onicomicosi con coinvolgimento della matrice, abbiamo deciso di utilizzare il valore riportato a 12 mesi del tasso di recidiva del 31,8% applicandolo però tal quale indipendentemente dall'intervallo coperto dal rapporto di sicurezza.

Tabella 1 Esempio 1 riepilogo dei risultati della ricerca.

Primo autore (anno)	N pazienti	Informazione	Commento
Baran (2007) [11]	n.d.	Una media di 3,20 unghie infette per paziente. Un flacone da 5 ml consentiva 251 applicazioni	Riferimento incrociato a Marty (2005)
Baran (2000) [12]	98	Presume il numero medio di unghie affette come 5,9	Terapia di combinazione per onicomicosi grave (lo smalto è stato aggiunto alla terapia sistemica)
Baran (2001) [13]	98	Analisi di costo	Prezzo al pubblico non riportato
Blume (2022) [14]	953	Numero di unghie colpite = 4,81 su 406 pazienti, 4,65 su 410 e 4,96 su 137	Onicomicosi subungueale distale e laterale da lieve a moderata causata da dermatofiti
Crawford (2007) [8]	–	–	Sostituito da Foley (2020)
Elewski (2013) [15]	446	204 avevano il ≤40% di unghie coinvolte, 316 più del 40%	Amorolfina usata due volte alla settimana. Popolazione con malattia grave
Foley (2020) [9]	–	–	[escluso] info non rilevanti
Gupta (2016) [16]	n.d.	Tasso di recidiva a 12 mesi = 31,8%	Rif. crociato a Sigurgeisson (2010)
Lambert (2003) [17]	98	3x2,5 ml flaconi per 15 mesi di trattamento	Terapia di combinazione, rif. crociato a Baran (2000)
Lauharanta (1992) [18]	157	Il 60% dei pazienti aveva 1-2 unghie colpite	
Lecha (2001) [19]	88	1 flacone è durato 24 settimane	Manca l'informazione sul volume del flacone
Lecha (2002) [20]	88	1 flacone 5 ml è durato 24 settimane	Terapia di combinazione per onicomicosi grave (smalto in aggiunta a terapia sistemica)
Marty (2005) [21]	463	Flacone 2,5 ml durato 125 applicazioni. 3,20 unghie medie colpite per paziente	Dati ottenuti da unghie sintetiche e misurazione delle dimensioni delle unghie in volontari sani
MHRA PAR [22]	n.d.	Flacone 3 ml dura 3 mesi curando 4 unghie	Dichiarazione del titolare del prodotto di riferimento
Reinel (1992a) [23]	456	–	Solo endpoint di efficacia
Reinel (1992b) [24]	538	Unghie colpite: 1-2 in 218 pazienti; 3-5 in 142; oltre 5 in 78 pazienti	
Rigopoulos (2003) [25]	45	1,5 flaconi sono durati 6 mesi	Manca l'informazione sul volume del flacone
Schaller (2015) [26]	8	Superficie dell'unghia = 3,76-3,90 cm ² flacone da 2,5 ml ha coperto 44 applicazioni settimanali	Solo pazienti donne
Shemer (2017) [27]	320	Mediamente 2,4 unghie colpite	
Sigurgeisson (2010) [28]	26	Tasso di recidiva a 12 mesi = 31,8%	
Sigurgeisson (2016) [29]	50	Quantità media usata 2,39 e 2,48 g. Media unghie colpite = 5,8	
Zaug (1992) [30]	727	Media unghie affette = 3,0	

I dati e il calcolo effettuato per il trattamento con amorolfina sono riassunti nella **Tabella 2**. Per ciascun gruppo di gravità, gli equivalenti [F] rappresentano il consumo di prodotto di questo gruppo specifico ponderato per la sua rappresentatività.

Tabella 2 Stimatore per pazienti esposti ad amorolfina.

Gruppo pazienti	Su 1 paziente [A]	Unghie coinvolte [B]	Periodo di trattamento (mesi) [C]	Periodo di trattamento (settimane) [D]	Consumo (ml) [E]	Consumo ponderato (equivalenti) [F]
Lieve	0,591	2	10,29*	C/12x52	BxD/50**	Ax E
Moderato	0,264	4	12			
Grave	0,145	5,9	15			

*6 mesi per il 27% del gruppo, 12 mesi per il 68%; **50 applicazioni con 1 ml di smalto.

Il calcolo finale è:

$$(0,591 * (2 * (10,29 / 12 * 52) / 50) + 0,264 * (4 * (12 / 12 * 52) / 50) + 0,145 * (5,9 * (15 / 12 * 52) / 50)) = 3,26 * 1,318 = \mathbf{4,30}$$

Un paziente di amorolfina consuma mediamente 4,30 millilitri di smalto. La stima della popolazione esposta può ora essere ottenuta dividendo le vendite totali (in millilitri) per il fattore di conversione di 4,30. Il tasso di recidiva del 31,8% in accordo a Sigurgeisson 2010 [28] è stato aggiunto al risultato nell'ultima fase del calcolo.

Esempio 2

I risultati dell'esempio effettuato con unguento e gel a base di calcipotriolo e betametasone sono riassunti nella **Tabella 3**.

Abbiamo notato che il consumo medio di unguento e gel, anche dopo la ponderazione in base alla dimensione del campione, era diverso. Di conseguenza è stato deciso di elaborare uno stimatore per ogni forma farmaceutica. Quattro studi riportavano un valore molto lontano dalla media (Silver 2013 [46], Kaufmann 2002 [36], Ma 2016 [41] e Koo 2016 [37]). In tutti tranne Ma 2016 [41] i criteri di inclusione erano al di fuori delle indicazioni del prodotto, ad esempio più del 10% della superficie corporea interessata o una manifestazione di grado severo. Per questo motivo sono stati esclusi dal calcolo finale.

Il consumo settimanale è stato soppesato in base alla dimensione del campione tra i restanti studi [L]. I dati e il calcolo effettuato sono schematizzati nella **Tabella 4**. Le referenze Luger 2008 [40] e Kragballe 2006 [38] con dati a copertura di 52 settimane per gel e unguento, rispettivamente, hanno permesso di superare l'incertezza del rapporto settimane in trattamento/settimane in remissione all'interno di un anno [M]. Questo ci ha permesso di introdurre come nuovo parametro l'intervallo coperto dal PSUR.

Tabella 3 Esempio 2 riepilogo dei risultati della ricerca.

Primo autore (anno)	N pazienti	Forma farmaceutica	Informazione	Commento
Buckley (2008) [31]	108	Gel	17,3g/1 sett. >10% dell'area totale dello scalpo e IGA almeno moderato. Cuoio capelluto	Durata dello studio: 8 settimane
Caldarola (2017) [32]	–	Gel	–	[escluso] La quantità di prodotto usato è fornita già divisa per i giorni di terapia e il BSA
Fenton (2004) [33]	147		–	[escluso] analisi di costo priva di prezzo del prodotto
Fleming (2010) [34]	162	Gel	22,7 g/sett IGA almeno moderato. Braccia e gambe	
Jemec (2008) [35]	480	Gel	139,1/8 sett. >10% dell'area totale dello scalpo e IGA almeno moderato. Cuoio capelluto	Durata dello studio: 8 settimane
Kaufmann (2002) [36]	490	Unguento	134 g/4 sett. >10% gambe e braccia	Durata dello studio: fino a 4 sett. Baseline PASI medio 9,9
Koo (2016) [37]	135	Unguento	30,6 g/1 sett. BSA 2-30% PGA almeno lieve, mPASI esclusa la testa punteggio 2	Durata dello studio: 4 sett.
Kragballe (2006) [38]	212	Unguento	84,6-99,3 g/4 sett. IGA almeno moderato. Braccia e gambe	Durata dello studio: 52 sett.
Kragballe (2006) [38]	212	Unguento	898,8 g / 52 sett. IGA almeno moderato. Braccia e gambe	Durata dello studio: 52 sett.
Lee (2017) [39]	201	Gel	11,83 g/1 sett. IGA almeno lieve. Braccia e gambe	Fase di induzione: 8 sett.
Lee (2017) [39]	37	Gel	13,09 g/1 sett. IGA almeno lieve. Braccia e gambe	8 sett. Usato al bisogno
Lee (2017) [39]	41	Gel	11,55 g/1 sett. IGA almeno lieve. Braccia e gambe	8 sett. Usato senza discontinuità
Lee (2017) [39]	39	Gel	28,56 g/1 sett. IGA almeno lieve. Braccia e gambe	[escluso] usato solo nei fine settimana
Luger (2008) [40]	337	Gel	470,8 g/44 sett. >10% dell'area totale dello scalpo e IGA almeno moderato. Cuoio capelluto	Durata dello studio: 52 sett.

Primo autore (anno)	N pazienti	Forma farmaceutica	Informazione	Commento
Ma (2016) [41]	112	Gel	127,7 g/4 sett. >10% dell'area totale dello scalpo e IGA almeno moderato. Cuoio capelluto	Pazienti con psoriasi in altre aree sono inclusi ma non trattati
Mrowietz (2011) [42]	721	Gel	60 g/4,36 sett. 88% dei pazienti con PGA almeno moderato. Cuoio capelluto	
Radtke (2010) [43]	-	-	-	Rif. crociato a Jemec 2008
Ramsay (1994) [44]			Solo calcipotriolo	[escluso]
Sandoval (2014) [45]	10	Gel	8,8g / 3 giorni. IGA da lieve a moderato. 1-10% BSA	Durata dello studio: 3 giorni
Sandoval (2014) [45]	10	Unguento	11g / 3 giorni. IGA da lieve a moderato. 1-10% BSA	Durata dello studio: 3 giorni
Silver (2013) [46]	43	Gel	52,3 g/1 sett. BSA 15-30%. IGA almeno moderato. Braccia e gambe	Durata dello studio: 8 sett.
Sticherling (2013) [47]	528	Gel	55,8 g/5 sett. Almeno moderata. Braccia e gambe	

Tabella 4 Stimatore per pazienti esposti a calcipotriolo e betametasona.

Forma farmaceutica	Consumo settimanale medio [L]	Settimane / anno (media) [M]	Equivalenti
Unguento	20,26	42,63*	L x M
Gel	14,16	44,00**	

* Kragballe 2006 [38]. Consumo medio di 4 settimane rispetto al totale dichiarato per 52 settimane; ** Luger 2008 [40]

Il calcolo finale è

Unguento: $20,26 \times 42,63 = 863,68$

Gel: $14,16 \times 44,00 = 623,04$

Un paziente di calcipotriolo / betametasona consuma mediamente 863,68 grammi/anno quando utilizza la formulazione in unguento e 623,04 grammi/anno se applica il gel.

La stima della popolazione esposta ogni anno può essere ottenuta dividendo le vendite totali di ciascuna forma farmaceutica (in grammi) per i fattori di conversione di cui sopra.

Discussione

Stimare l'esposizione dei pazienti può essere un compito difficile quando si tratta di prodotti topici. L'attribuzione di ogni confezione ad un diverso paziente può risultare appropriata per alcuni topici (ad esempio antibiotici) ma insufficiente a catturare il percorso di trattamento della maggior parte delle malattie della pelle ove la quantità applicata è di solito correlata all'estensione e alla gravità della manifestazione.

Ogni titolare dell'Autorizzazione all'Immissione in Commercio può scegliere il metodo ritenuto più appropriato, che sarà confidenziale in quanto parte del PSUR. L'adequazione di tale metodo è delegata esclusivamente al titolare AIC. Più lo stimatore è accurato più ci si avvicinerà alla realtà in termini di valutazione del rapporto beneficio/rischio. Le informazioni sulla sicurezza derivanti dal post-marketing richiedono di quantificare la popolazione esposta per generare frequenze e per comprendere meglio le informazioni di sicurezza in quanto tali. Se il titolare AIC sovrastima la popolazione esposta (ad esempio attribuendo ogni confezione ad un diverso paziente), le frequenze risulteranno inferiori a quelle reali. Inoltre, l'approccio di una (o più) confezioni per un paziente potrebbe risultare difficilmente giustificabile come metodo nonostante questo sia un requisito.

I dati della letteratura sono preziose fonti di informazione per comprendere l'uso del prodotto nel mondo reale. Inoltre sono aggiornati, catturando possibili cambiamenti nei percorsi di trattamento o usi combinati con altri prodotti.

Basando la propria stima su questi dati il titolare AIC può quindi soddisfare entrambi i requisiti della normativa di farmacovigilanza cioè l'elaborazione di uno stimatore e del metodo utilizzato.

Punti di forza e limiti

In base alle nostre conoscenze si tratta del primo articolo che affronta questo argomento.

Il processo a step proposto include sia i dati del dossier registrativo (spesso non pubblicati) che la letteratura scientifica. Questo approccio abbraccia le caratteristiche delle diverse basi giuridiche di registrazione perché un dossier completo basato sull'articolo 8 della direttiva 2001/83/CE sarà più ricco di dati interni rispetto ad una registrazione ibrida da articolo 10.3. Tuttavia, la procedura di autorizzazione semplificata (ad es. ibrida) verrà supportata con una domanda di Autorizzazione all'Immissione in Commercio più recente e quindi comprensiva di anni di letteratura scientifica pubblicata. Il limite principale del metodo proposto deriva dalla ricerca bibliografica: alcuni articoli non sono disponibili liberamente e le informazioni sono talvolta contrastanti; sono necessarie delle conoscenze di base sulle indicazioni del prodotto e sulla malattia per poter discriminare le informazioni utili da quelle fuorvianti.

Inoltre il calcolo proposto basato sulla quantità totale del medicinale non tiene conto dell'indivisibilità di una confezione. Ciò è particolarmente evidente nell'esempio 1 relativo all'amorolfina nel quale si imputa al gruppo con gravità lieve il consumo di meno di un flacone di medicinale ciascuno. Tuttavia i PSUR includono frequentemente più autorizzazioni all'immissione in commercio relative a differenti Stati membri nei quali potrebbero essere commercializzate confezioni di dimensioni diverse. L'aggiunta di questo parametro al calcolo non sarebbe quindi un compito facile.

Infine i prodotti topici sono noti per essere soggetti a perdita di aderenza (compliance). Sebbene questo parametro sia stato incluso solo nell'esempio 1 il dato è spesso assente dalla letteratura: le referenze sono solitamente studi prospettici ove i pazienti sono più aderenti perché più coinvolti e monitorati. Nondimeno la mancanza del parametro di aderenza terapeutica porterà a una sottostima; la quantità stimata per persona sarà superiore alla realtà portando in ultima analisi ad un denominatore più piccolo e a frequenze più alte ricadenti nel "best-case" dal punto di vista della sicurezza.

Conclusioni

Nel nostro studio illustriamo un modo efficace per stimare l'esposizione dei pazienti a partire dai dati di vendita consentendo di soddisfare i requisiti della Direttiva 2010/84/UE e GVP Modulo VII fornendo sia una stima accurata della popolazione esposta che il metodo utilizzato. Lo stimatore, generando il numero di pazienti esposti, consente di bilanciare le informazioni di sicurezza dal post-marketing e aiuta l'Autorità Competente che valuta il Rapporto a comprendere il metodo utilizzato e i risultati da esso derivati.

Bibliografia

- [1] EMA. Pharmacovigilance: post-authorisation. Available at <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/post-authorisation/pharmacovigilance-post-authorisation> (consultato il 14/02/2023).
- [2] Borg J-J, et al. "Strengthening and rationalizing pharmacovigilance in the EU: where is Europe heading to? A review of the new EU legislation on pharmacovigilance." *Drug safet.* 2011; 34: 187-197.
- [3] Pacurariu AC, et al. "A description of signals during the first 18 months of the EMA pharmacovigilance risk assessment committee." *Drug safety.* 2014; 37: 1059-1066.
- [4] Note for Guidance on Clinical Safety Data Management: Periodic Safety Update Reports For Marketed Drugs (CPMP/ICH/288/95).
- [5] EMA. Periodic safety update reports (PSURs). Available at <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/post-authorisation/pharmacovigilance/periodic-safety-update-reports-psurs> (consultato il 14/02/2023).
- [6] DIRECTIVE 2010/84/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 15 December 2010 amending, as regards pharmacovigilance, Directive 2001/83/EC on the Community code relating to medicinal products for human use.
- [7] Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP) - Module VII – Periodic safety update report.
- [8] Crawford Fay, Sally Hollis. "Topical treatments for fungal infections of the skin and nails of the foot." *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2007; 3.
- [9] Foley K, et al. "Topical and device-based treatments for fungal infections of the toenails." *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2020; 1.
- [10] Defined Daily Dose (DDD) (who.int) <https://www.who.int/tools/atc-ddd-toolkit/about-ddd> (consultato il 23/03/2023).
- [11] Baran R1, et al. "A multicentre, randomized, controlled study of the efficacy, safety and cost-effectiveness of a combination therapy with amorolfine nail lacquer and oral terbinafine compared with oral terbinafine alone for the treatment of onychomycosis with matrix involvement." *British Journal of Dermatology.* 2007; 157.1: 149-157.
- [12] Baran R., et al. "A randomized trial of amorolfine 5% solution nail lacquer combined with oral terbinafine compared with terbinafine alone in the treatment of dermatophytic toenail onychomycoses affecting the matrix region." *British Journal of Dermatology.* 2000; 142.6: 1177-1183.
- [13] Baran R. "Topical amorolfine for 15 months combined with 12 weeks of oral terbinafine, a cost-effective treatment for onychomycosis." *British Journal of Dermatology.* 2001; 145.s60: 15-19.
- [14] Blume-Peytavi U, et al. "A multicentre, randomised, parallel-group, double-blind, vehicle-controlled and open-label, active-controlled study (versus amorolfine 5%), to evaluate the efficacy and safety of terbinafine 10% nail lacquer in the treatment of onychomycosis." *Mycoses.* 2022; 65.4: 392-401.

- [15] Elewski BE, et al. "Efficacy, safety and tolerability of topical terbinafine nail solution in patients with mild-to-moderate toenail onychomycosis: results from three randomized studies using double-blind vehicle-controlled and open-label active-controlled designs." *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2013; 27.3: 287-294.
- [16] Gupta AK, et al. "Onychomycosis: strategies to minimize recurrence." *Journal of drugs in dermatology: JDD*. 2016; 15.3: 279-282.
- [17] Lambert J. "Pharmacoeconomic issues in onychomycosis." *British Journal of Dermatology*. 2003; 149.s65: 19-22.
- [18] Lauharanta J. "Comparative efficacy and safety of amorolfine nail lacquer 2% versus 5% once weekly." *Clinical and experimental dermatology*. 1992; 17.s1: 41-43.
- [19] Lecha M. "Amorolfine and itraconazole combination for severe toenail onychomycosis; results of an open randomized trial in Spain." *British Journal of Dermatology*. 2001; 145.s60: 21-26.
- [20] Lecha M, et al. "An open-label, multicenter study of the combination of amorolfine nail lacquer and oral itraconazole compared with oral itraconazole alone in the treatment of severe toenail onychomycosis." *Current therapeutic research*. 2002; 63.6: 366-379.
- [21] Marty J-PL, et al. "Treatment costs of three nail lacquers used in onychomycosis." *Journal of dermatological treatment*. 2005; 16.5-6: 299-307.
- [22] Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA) Public Assessment Report CURANAIL 5% NAIL LACQUER (AMOROLFINE HYDROCHLORIDE) - PL 10590/0049. Available at <https://mhraproducts4853.blob.core.windows.net/docs/718ef38586116defa441372e81896027ade9cb4a> (consultato il 11/04/2023).
- [23] Reinel D. "Topical treatment of onychomycosis with amorolfine 5% nail lacquer: comparative efficacy and tolerability of once and twice weekly use." *Dermatology*. 1992; 184 Suppl. 1: 21-26.
- [24] Reinel D, Clarke C. "Comparative efficacy and safety of amorolfine nail lacquer 5% in onychomycosis, once-weekly versus twice-weekly." *Clinical and experimental dermatology*. 1992; 17: 44-49.
- [25] Rigopoulos D, et al. "A randomized trial of amorolfine 5% solution nail lacquer in association with itraconazole pulse therapy compared with itraconazole alone in the treatment of Candida fingernail onychomycosis." *British Journal of Dermatology*. 2003; 149.1: 151-156.
- [26] Schaller M, et al. "Comparison of user-friendliness and treatment cost of Loceryl® vs. Ciclopoli®-a patient's perspective." *Mycoses*. 2015; 58.10: 632-636.
- [27] Shemer A, et al. "Topical antifungal treatment prevents recurrence of toenail onychomycosis following cure." *Dermatologic therapy*. 2017; 30.5: e12545.
- [28] Sigurgeirsson B, et al. "Efficacy of amorolfine nail lacquer for the prophylaxis of onychomycosis over 3 years." *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2010; 24.8: 910-915.
- [29] Sigurgeirsson B, et al. "Application of cosmetic nail varnish does not affect the antifungal efficacy of amorolfine 5% nail lacquer in the treatment of distal subungual toenail onychomycosis: results of a randomised active-controlled study and in vitro assays." *Mycoses*. 2016; 59.5: 319-326.
- [30] Zaug M, Bergstraesser M. "Amorolfine in the treatment of onychomycoses and dermatomycoses (an overview)." *Clinical and Experimental Dermatology*. 1992; 17: 61-70.
- [31] Buckley C, et al. "Calcipotriol plus betamethasone dipropionate scalp formulation is effective and well tolerated in the treatment of scalp psoriasis: a phase II study." *Dermatology*. 2008; 217.2: 107-113.
- [32] Caldarola G, et al. "Role of personalized medication training in improving efficacy and adherence to a topical therapy in psoriatic patients." *Journal of Dermatological Treatment*. 2017; 28.8: 722-725.
- [33] Fenton C, Greg L. Plosker. "Calcipotriol/betamethasone dipropionate: a review of its use in the treatment of psoriasis vulgaris." *American journal of clinical dermatology*. 2004; 5: 463-478.
- [34] Fleming C, et al. "Calcipotriol plus betamethasone dipropionate gel compared with its active components in the same vehicle and the vehicle alone in the treatment of psoriasis vulgaris: a randomised, parallel group, double-blind, exploratory study." *European Journal of Dermatology*. 2010; 20.4: 465-471.
- [35] Jemec GBE, et al. "A new scalp formulation of calcipotriene plus betamethasone compared with its active ingredients and the vehicle in the treatment of scalp psoriasis: a randomized, double-blind, controlled trial." *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2008; 59.3: 455-463.
- [36] Kaufmann R, et al. "A new calcipotriol/betamethasone dipropionate formulation (Daivobet™) is an effective once-daily treatment for psoriasis vulgaris." *Dermatology*. 2002; 205.4: 389-393.
- [37] Koo J, et al. "Superior efficacy of calcipotriene and betamethasone dipropionate aerosol foam versus ointment in patients with psoriasis vulgaris-A randomized phase II study." *Journal of dermatological treatment*. 2016; 27.2: 120-127.
- [38] Kragballe K, et al. "A 52-week randomized safety study of a calcipotriol/betamethasone dipropionate two-compound product (Dovobet®/Daivobet®/Taclonex®) in the treatment of psoriasis vulgaris." *British Journal of Dermatology*. 2006; 154.6: 1155-1160.
- [39] Lee J-H, et al. "Optimal maintenance treatment with calcipotriol/betamethasone dipropionate gel in Korean patients with psoriasis vulgaris: a multicentre randomized, controlled clinical trial." *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2017; 31.3: 483-489.
- [40] Luger TA, et al. "A study of the safety and efficacy of calcipotriol and betamethasone dipropionate scalp formulation in the long-term management of scalp psoriasis." *Dermatology*. 2008; 217.4: 321-328.
- [41] Ma Li, et al. "Calcipotriol plus betamethasone dipropionate gel compared with calcipotriol scalp solution in the treatment of scalp psoriasis: a randomized, controlled trial investigating efficacy and safety in a Chinese population." *International Journal of Dermatology*. 2016; 55.1: 106-113.
- [42] Mrowietz, Ulrich, Oliver Macheleidt, and Christoph Eicke. "Effective treatment and improvement of quality of life in patients with scalp psoriasis by topical use of calcipotriol/betamethasone (Xamiol®-gel): results." *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2011; 9.10: 825-831.
- [43] Radtke, M. A., et al. "Calcipotriol plus betamethasone dipropionate gel in the treatment of scalp psoriasis: A review." *Der Hautarzt*. 2010; 61: 770-775.
- [44] Ramsay CA, et al. "Long-term use of topical calcipotriol in chronic plaque psoriasis." *Dermatology*. 1994; 189.3: 260-264.
- [45] Feldman SR. "Calcipotriene 0.005%-betamethasone dipropionate 0.064% ointment versus topical suspension in the treatment of plaque psoriasis: a randomized pilot study of patient preference." *Cutis*. 2014; 94: 304-309.
- [46] Silver S, et al. "Effect of calcipotriene plus betamethasone dipropionate topical suspension on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and calcium homeostasis in subjects with extensive psoriasis vulgaris: an open, non-controlled, 8-week trial." *Journal of drugs in dermatology: JDD*. 2013; 12.8: 882-887.
- [47] Sticherling M, Eicke C, Anger T. "Practicability of combined treatment with calcipotriol/betamethasone gel (Daivobet® Gel) and improvement of quality of life in patients with psoriasis." *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2013; 11.5: 420-427.



Master in FARMACOVIGILANZA

anno accademico 2022-2023

VALUTAZIONE E ANALISI DELLA PRESENZA DELLE N-NITROSAMMINE NEI PRINCIPI ATTIVI PRODOTTI PRESSO L'AZIENDA DIPHARMA: TEORIA E PRATICA

Evaluation and analysis of the presence of N-nitrosamines in Dipharma active pharmaceutical ingredients: theory and practice

Anita Maria Lis, Riccardo Carcano

Progetto di stage svolto presso Dipharma Francis srl, Baranzate (MI)

Keywords

N-nitrosamine
Active Pharmaceutical
Ingredient
Nitrosating agent
Nitrosatable amine
Active Pharmaceutical
Ingredients Committee

Abstract

Introduction The presence of nitrosamines, or more formally N-nitrosamines, in valsartan - Active Pharmaceutical Ingredient (API) manufactured by Zhejiang Huahai, came to light in June 2018. Some nitrosamines are genotoxic (may damage DNA) and carcinogenic, and can be formed in many different ways by reaction of most types of amines with any of a large number of nitrosating species. Nitrosatable amines are found in many foods and some are synthesized in the body. Furthermore, amines have a wide range of industrial and commercial applications, including the manufacture of medicines. The presence of unacceptable levels of harmful impurities in pharmaceutical products poses a threat to public health that can have far-reaching effects on patients, the pharmaceutical industry, regulatory agencies and healthcare providers. To ensure the quality of pharmaceutical products, manufacturers must properly assess the risk of nitrosamine formation in their products and further investigate any potential risk. The presence of unacceptable levels of nitrosamines in medicines represents a problem of great importance and understanding the risks and how to measure them is a first step towards effective management and control.

Objectives The project addressed the risk of nitrosamine presence in medicines for human use and focused on the risk assessment in relation to some of the active pharmaceutical ingredients produced by Dipharma Francis srl. The objective of the project was to establish, through the evaluation of the synthesis process and the other conditions, the level of risk and, if necessary, to perform further checks and analyses.

Methods The applied protocol includes 3 phases: Step 1 (risk assessment), during which numerous aspects of the production of the active ingredient must be analysed with the aim of understanding if there are conditions that could favour the formation of nitrosamines; Step 2 (confirmatory testing) is performed in order to carry out the analyses to confirm the presence of one or more nitrosamines identified during Step 1 and to establish whether any quantities present exceed the indicated limits; if the quantities present in the active ingredient exceed the established limits, it is necessary to carry out the actions foreseen in Step 3 (risk mitigation measures) and adopt effective measures to reduce the risk.

Results and Conclusion Two cases were described in this study. The first case (Benserazide hydrochloride) well illustrates the execution of Step 1 (risk assessment). The thorough evaluation allowed to state that there is no risk of nitrosamine formation. The second case (Isosorbide-5-mononitrate) is focused on the execution of Step 2 (confirmatory testing), as the evaluation during Step 1 identified a potential presence of 3 nitrosamines. Based on the evidences collected during the execution of Step 2, the risk of the presence of nitrosamines in Isosorbide-5-mononitrate was redefined as negligible.

Introduzione

A partire dal 2018, alti livelli di impurezze da nitrosammine sono stati trovati in alcuni farmaci comunemente prescritti come farmaci per la pressione sanguigna, antiacidi, farmaci per il diabete e farmaci contro il tabagismo [1]. Le nitrosammine possono essere presenti in vari contesti: ambiente, alimenti, acque potabili, pesticidi, medicinali per uso umano e veterinario, cosmesi. Le nitrosammine sono un gruppo di sostanze chimiche, alcune delle quali possono rappresentare un rischio per i pazienti e per la salute pubblica a causa delle loro proprietà mutagene. Una volta metabolizzate, le nitrosammine vengono convertite in agenti alchilanti: alcuni di questi sono noti per danneggiare il DNA e sono stati collegati al cancro. Livelli non accettabili di impurezze da nitrosammine in alcuni lotti del bloccante del recettore dell'angiotensina II (ARB) valsartan sono stati rilevati per la prima volta nel 2018 [2]. Successivamente, sono stati trovati in altri ARB, così come in farmaci non correlati, tra cui ranitidina, nizatidina, metformina, rifampicina e rifapentina. La scoperta di nitrosammine in diversi prodotti farmaceutici che contengono principi attivi con diverse strutture chimiche, ha indicato che potrebbero esserci molteplici fonti di impurezze da nitrosammine, inclusi altri componenti dei prodotti farmaceutici e il processo di fabbricazione in sé [2].

A settembre del 2019 è stato lanciato un processo denominato 'call for review' per i medicinali contenenti principi attivi farmaceutici (API) di sintesi chimica, con lo scopo di richiedere ai titolari dell'autorizzazione all'immissione in commercio (MAH) di rivedere i loro processi produttivi al fine di identificare e, se necessario, mitigare il rischio di presenza di impurezze da nitrosammine e riferire il risultato alle autorità. Questa pratica è stata avviata mentre era in corso la revisione da parte del Comitato per i Medicinali per Uso umano (CHMP), ai sensi dell'articolo 5, paragrafo 3, in riferimento alle impurezze da nitrosammine nei medicinali per uso umano [3-5].

Approfondite indagini hanno stabilito che i livelli non accettabili di nitrosammine riscontrati nel principio attivo valsartan erano causati da un cambiamento nel processo di produzione apportato per migliorare il rendimento produttivo. Le nitrosammine possono formarsi durante tutto il processo di produzione, compresa la sintesi, la purificazione, la formulazione, l'imballaggio e lo stoccaggio. Anche piccole modifiche ai processi di produzione possono introdurre o modificare i livelli di impurezze. Tali impurezze potrebbero essere introdotte ad esempio nelle materie prime (*raw materials*), nei solventi o derivare dalla degradazione del prodotto. I produttori dovrebbero stabilire strategie di controllo per valutare e mitigare i potenziali rischi. Quando viene identificato il rischio di formazione di nitrosammine è essenziale l'uso di test analitici per rilevare e misurare i livelli di nitrosammine al fine di proteggere i pazienti dall'esposizione a livelli non accettabili di queste sostanze potenzialmente dannose [2].

Le N-nitrosammine sono il prodotto di reazione di un'ammina e un agente nitrosante, sebbene siano possibili anche altre vie di formazione, come ad esempio processi di ossidazione e di riduzione di composti come idrazina ed N-nitro derivati. Le cause della presenza delle N-nitrosammine nei medicinali fino ad oggi identificate possono essere raggruppate come fattori di rischio legati al processo di fabbricazione e conservazione dei principi attivi e/o come fattori di rischio associati alla produzione e conservazione del prodotto finito. Esistono anche fattori di rischio specificatamente correlati agli aspetti cGMP (*current Good Manufacturing Practice*) [3]. Di seguito sono elencati i fattori di rischio attualmente identificati per le impurezze da nitrosammine nei medicinali, insieme ad alcuni identificati in letteratura. Tuttavia, l'elenco non è esaustivo [3].

Fattori di rischio legati alla produzione del principio attivo:

1. Uso di sali ed esteri di nitrito (ad esempio NaNO_2), o di altri agenti nitrosanti, in presenza di ammine secondarie o terziarie, nella stessa o diverse fasi del processo di produzione. Le fonti di ammine secondarie o terziarie possono anche essere *starting materials* (sostanze di proprietà e struttura chimica definite e che vengono incorporate come frammento strutturale significativo nella struttura del principio attivo; ciò le distingue da reagenti, solventi o altri *raw materials*), intermedi, reagenti, solventi e catalizzatori, che contengono il gruppo amminico, impurezze amminiche (ad esempio sali di ammonio quaternario) o che sono suscettibili di degradazione per formare ammine.
2. Formazione di nitriti mediante ossidazione di idrossilammina o rilascio di nitriti da precursori nitro-aromatici (ad esempio mediante denitrazione di fluoro), in presenza di ammine secondarie o terziarie nella stessa o diverse fasi del processo di produzione.
3. Utilizzo di acqua disinfettata (trattamento con cloro, cloroammina, ozono) in presenza di ammine secondarie o terziarie nella stessa o diverse fasi del processo produttivo.
4. Ossidazione di idrazine, idrazidi e idrazoni mediante ipoclorito, aria, ossigeno, ozono e perossidi durante il processo di produzione o durante lo stoccaggio.
5. Uso di materie prime (*raw materials*) contaminate nel processo produttivo dell'API, uso di materiali recuperati o riciclati contaminati, uso di *starting materials* e prodotti intermedi contaminati ricevuti da fornitori che utilizzano processi o materie prime (*raw materials*) che potrebbero contenere nitrosammine residue o agenti nitrosanti.
6. *Carry-over* di nitrosammine generate deliberatamente (ad esempio come *starting materials* o intermedi) durante il processo produttivo.

Fattori di rischio legati anche al prodotto finito:

7. Reazione dell'azoto 'nitrosabile' negli API o nelle loro impurezze/prodotti di degradazione con agenti nitrosanti presenti nei componenti del prodotto finito durante la produzione o lo stoccaggio. Un rischio particolare di formazione di nitrosammine va notato per i principi attivi che contengono un gruppo funzionale amminico 'nitrosabile'.
8. Processi di degradazione di principi attivi, compresi quelli indotti da reattività intrinseca (ad esempio la presenza di nitro-alchile, ossima o altri gruppi funzionali, o dovuti alla presenza di un agente nitrosante esogeno).
9. Ossidazione di idrazina o di altri gruppi funzionali contenenti ammine presenti nei principi attivi o nelle loro impurezze/prodotti di degradazione (ad esempio da idrazoni e idrazidi), sia nei processi di produzione dei principi attivi che durante lo stoccaggio. Questo fattore è stato osservato anche durante la produzione e lo stoccaggio di prodotti finiti contenenti questi gruppi funzionali. Potenziali ossidanti includono ossigeno e perossidi (impurezze comuni in alcuni eccipienti).
10. Uso di determinati materiali di imballaggio. Una rilevante contaminazione da nitrosammine è stata osservata nell'imballaggio primario di alcuni prodotti finiti confezionati in blister con un film di copertura contenente la nitrocellulosa. Durante il processo di termosaldatura del blister può essere generato termicamente dalla nitrocellulosa l'ossido di azoto.
11. Reazione di lisciviazione di ammine da resine a scambio anionico con gruppo funzionale di ammonio quaternario (utilizzate ad esempio per fasi di purificazione) con agenti nitrosanti presenti nella fase liquida.

Fattori di rischio relativi agli aspetti GMP:

12. Contaminazione crociata dovuta a diversi processi eseguiti successivamente sulla stessa linea di produzione.
13. *Carry-over* di impurezze tra le fasi del processo a causa di errori dell'operatore o batch record non sufficientemente dettagliati, come separazioni di fase inadeguate durante le procedure di lavorazione.
14. Utilizzo di materiali recuperati o riciclati contaminati (ad esempio solventi, reagenti e catalizzatori) laddove il recupero sia affidato a terzi che non sono a conoscenza del contenuto dei materiali che stanno trattando. Dovrebbero essere presi in considerazione anche i processi di recupero eseguiti utilizzando apparecchiature/ attrezzature non dedicate.

Se viene rilevata una nitrosammina, deve essere calcolato un limite che tenga conto di un'esposizione giornaliera per tutta la vita del paziente. I seguenti limiti in **Tabella 1** sono stati stabiliti per alcune specifiche N-nitrosammine e dovrebbero essere applicati; questi limiti sono applicabili solo se nel prodotto finito è presente una sola N-nitrosammina [4].

Tabella 1 Limiti per alcune specifiche N-nitrosammine.

N-Nitrosammina	Acceptable Intake - dose giornaliera accettabile (ng/day)
NDMA (N-Nitrosodimethylamine)	96.0
NDEA (N-Nitrosodiethylamine)	26.5
EIPNA (N-Nitrosoethylisopropylamine)	26.5
DIPNA (N-Nitrosodiisopropylamine)	26.5
NMBA (N-Nitroso-N-methyl-4-aminobutyric)	96.0
MeNP (1-Methyl-4-nitrosopiperazine)	26.5
NDBA (N-Nitroso-di-n-butylamine)	26.5

I limiti per le nitrosammine per cui non vi sono dati tossicologicamente convalidati possono essere fissati in conformità con i requisiti dell'UE. Questo può essere un limite di 18 ng al giorno oppure in alternativa un limite basato sulla relazione struttura-attività (SAR) [4].

Molte nitrosammine sono dei potenti cancerogeni, ad esempio NDMA, NDEA, NMBA. I test eseguiti su NDMA e NDEA hanno dimostrato che entrambe inducono danni al DNA. Utilizzando i livelli massimi di contaminanti riportati per NDMA e NDEA in alcuni prodotti farmaceutici richiamati contenenti valsartan e ipotizzando un'esposizione continua a questi livelli per sei anni, è stato stimato un intervallo di rischio di cancro associato a queste due nitrosammine. Per NDMA, il rischio di cancro stimato variava da 40 a 126 casi aggiuntivi per 100.000 individui esposti. Per NDEA, il rischio di cancro stimato variava da 12 a 48 casi aggiuntivi per 100.000 individui esposti. Utilizzando un altro approccio, la *Food and Drug Administration* (FDA) statunitense ha anche stimato che il rischio aggiuntivo nel corso della vita per i pazienti che assumevano la dose massima giornaliera di valsartan per quattro anni era di un caso di cancro in più ogni 8000 individui per NDMA (equivalente a 12.5 su 100.000) e di un caso di cancro aggiuntivo ogni 18.000 individui (equivalente a 5.6 su 100.000) per NDEA. Le ipotesi della FDA statunitense nella stima dei rischi includono una durata dell'esposizione di 4 anni e un peso corporeo di 50 kg. Tutte queste stime del rischio superano la probabilità di rischio di cancro nel corso della vita generalmente accettato dalla FDA statunitense per impurezze nei prodotti farmaceutici che è pari a 1 su 100.000 [6].

Valutazione del rischio

Il processo di valutazione del rischio di formazione di nitrosammine inizia con lo Step 1. Se non viene identificato alcun rischio per il/i principio/i attivo/i, i MAH devono condurre una valutazione del rischio del prodotto finito e presentare l'esito dello Step 1 solo quando raggiungono una conclusione definitiva su tutti i componenti, compresi il/i principio/i attivo/i, di cui è composto il prodotto finito.

Se viene identificato un rischio per il/i principio/i attivo/i, i MAH devono presentare il report relativo allo Step 1 e procedere con i test di conferma previsti per lo Step 2 sul prodotto finito. Le azioni dello Step 2 consistono nell'effettuare ulteriori test di conferma sui prodotti per cui è stato identificato il rischio di formazione di nitrosammine o di contaminazione crociata, e segnalare la presenza confermata di nitrosammine il prima possibile. Nel caso in cui i livelli della nitrosammina rilevata siano superiori alle quantità di assunzione accettabili, dovrebbe essere eseguito lo Step 3 che consiste nell'attuare efficaci misure di mitigazione del rischio attraverso la presentazione di variazioni [3]. Le scadenze per la presentazione delle valutazioni del rischio per Step 1, Step 2 e Step 3 (esclusi i nuovi prodotti farmaceutici) erano le seguenti:

- Step 1: 31 marzo 2021 per i medicinali di sintesi chimica e 1 luglio 2021 per i medicinali biologici;
- Step 2: 26 settembre 2022;
- Step 3: 1 ottobre 2023 per i medicinali di sintesi chimica e 1 luglio 2023 per i medicinali biologici.

Obiettivi

In seguito alla scoperta di impurezze da nitrosammine nella ranitidina cloridrato e alla scoperta di tali impurezze nei sartani, Dipharma Francis srl ha iniziato ad effettuare un'approfondita valutazione del rischio al fine di verificare la presenza di nitrosammine nei suoi principi attivi. Di conseguenza, Dipharma ha iniziato a testare e migliorare i propri sistemi e metodi per soddisfare i requisiti delle linee guida dell'EMA (Agenzia Europea per i Medicinali) [7].

Il protocollo da seguire prevede:

- Step 1 (valutazione del rischio), durante il quale devono essere analizzati numerosi aspetti relativi alla produzione del principio attivo (presenza di alert structures: agenti nitrosanti e ammine lungo il processo produttivo; attrezzature e tipo di acqua utilizzate durante la sintesi; possibile formazione di impurezze; informazioni da fornitori di starting materials, reagenti, solventi e catalizzatori) con lo scopo di capire se ci sono condizioni che potrebbero favorire la formazione di nitrosammine. Questa valutazione permette di identificare la classe di rischio per la presenza di nitrosammine.
- Il punteggio ottenuto permette di stabilire se è necessario o meno passare allo Step 2 (test di conferma) per confermare la presenza di una o più nitrosammine nel principio attivo e stabilire se eventuali quantità presenti superano i limiti indicati.
- Qualora le quantità presenti nel principio attivo dovessero risultare superiori ai limiti stabiliti, è necessario eseguire le azioni previste dallo Step 3 (misure di mitigazione del rischio) e adottare misure efficaci per ridurre il rischio.

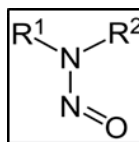
Gli obiettivi di questo progetto erano pertanto i) spiegare come viene eseguita la valutazione del rischio per la presenza di nitrosammine nei principi attivi farmaceutici; ii) stabilire il livello di rischio attraverso la valutazione del processo di sintesi e delle altre condizioni e, se necessario, effettuare ulteriori verifiche ed analisi.

Metodi

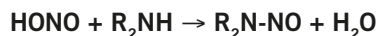
Le informazioni che seguono, relative ai metodi utilizzati, provengono dal "Protocollo di Valutazione del Rischio di presenza di Nitrosammine - Rev. 01", realizzato da Dipharma Francis srl nel 2021 [7]. Il documento è stato redatto ed approvato dall'Ufficio Qualità dell'azienda.

STEP 1: Risk assessment – valutazione del rischio

Le nitrosammine sono composti organici di formula generale $R_2N-N=O$, dove R è di solito un gruppo alchilico.



La chimica organica delle nitrosammine è caratterizzata dalla presenza di un gruppo nitroso (NO^+) legato all'ammina deprotonata. Di solito le nitrosammine si ottengono per reazione di acido nitroso (HNO_2) con un'ammina secondaria:



La valutazione del rischio si concentra sulle *alert structures*, che potrebbero creare le condizioni per la formazione di nitrosammine (**Tabella 2**):

La valutazione del rischio viene eseguita utilizzando i principi di gestione del rischio delineati nella linea guida Q9 dell'ICH (*International Council for Harmonisation*) e riportando i risultati nella tabella detta 'matrice' – 'matrix template'. La valutazione è focalizzata sulle *alert structures* che possono creare le condizioni per la formazione di nitrosammine e il relativo rischio è calcolato applicando il metodo FMECA. Il metodo FMECA - *Failure Modes, Effects and Criticality Analysis* - è una metodologia progettata al fine di identificare potenziali '*failure modes*' per un prodotto o un processo, valutare il rischio associato a tali '*failure modes*', classificare i problemi in termini di importanza e identificare ed eseguire azioni correttive per affrontare le questioni più gravi.

Tabella 2 Alert structures.

a) Nitriti (NO_2^-), nitrati (NO_3^-), azidi (N_3^-), N_2O_4 o N_2O_3 , NOCl gas disciolto (composti inorganici e organici)
b) Nitrocomposti (R-NO_2), R=alchile
c) Nitrocomposti (R-NO_2), R=arile
d) Idrossilammine (H_2NO)
e) Ammine secondarie ((R1)(R2)-NH), R1, R2=alchile, arile
f) Ammine terziarie ((R1)(R2)(R3)-N), R1, R2, R3=alchile, arile
g) Ammine primarie
h) Composti Azo- o Azossi- alifatici (R1-N=N-R2)
i) Anello tetrazolico
j) Ammidi primarie
k) Ammidi secondarie
l) Carbammati primari
m) Carbammati secondari
n) Idrazine
o) Impurezze di degradazione contenenti a) o e)
p) Carbone attivo*

*Il carbone attivo è una fonte potenziale di formazione di nitrosammine come riportato in letteratura - "Impatto Catalitico del Carbone Attivo sulla Formazione di Nitrosammine da Diversi Precursori Amminici".

Considerando l'API, ci sono diverse potenziali fonti di *alert structures* che potrebbero formare impurezze da nitrosammine:

- CATEGORIA 1: *alert structures* in qualsiasi fase del processo produttivo;
- CATEGORIA 2: *alert structures* in qualsiasi starting material/intermedio o eccipienti utilizzati;
- CATEGORIA 3: *alert structures* in qualsiasi solvente utilizzato nel processo produttivo;
- CATEGORIA 4: *alert structures* in qualsiasi reagente/catalizzatore utilizzato nel processo produttivo;
- CATEGORIA 5: *alert structures* nel processo di trattamento delle acque;
- CATEGORIA 6: indicazione se le attrezzature utilizzate sono dedicate alla produzione di un singolo principio attivo o meno;

Per ogni *alert structure* elencata sopra è indicato un punteggio specifico. Questo punteggio rappresenta la GRAVITÀ assegnata a ciascun caso sulla base delle conoscenze scientifiche per identificare l'impatto sulla formazione di nitrosammine. Sulla base delle proprietà chimiche delle nitrosammine, il calcolo del rischio viene eseguito secondo la seguente formula:

$$\text{IRP} = \text{A} \times \text{B} + \text{n}$$

Dove:

IRP = Index of Risk Probability

A = Nitro Rilevability

B = Amine Rilevability

n = punteggio fornito da altri fattori

La **Nitro Rilevability** si ottiene nel modo seguente:

$$\text{G Nitro} \times \text{P Nitro} \times \text{S Nitro}$$

G = Gravità (Tabella 3) è un punteggio applicato sulla base delle conoscenze scientifiche relative a ciascuna *alert structure*, al fine di indicare l'impatto di tale struttura sulla formazione del gruppo nitroso. L'impatto dell'*alert structure* valutata nel processo produttivo dovrebbe essere considerato seguendo la scala di impatto da 1 a 10. Il processo produttivo risulta più critico con il maggiore impatto sull'intera valutazione del rischio nel caso dell'effettiva presenza di specie chimiche in grado di formare nitrosammine. Mentre il punteggio per la stessa alert structure presente negli *starting*

materials, intermedi, solventi, reagenti o catalizzatori assume un valore su una scala da 1 a 3. Per le altre CATEGORIE (dalla 2 alla 5) si applica lo stesso approccio, ma il punteggio è 1/2/3 anziché 1/5/10. Per l'ultima categoria (attrezzature), il punteggio è 1/3/5, dove il punteggio più alto viene assegnato nel caso in cui le attrezzature, in uno stabilimento dove si producono sartani, sono utilizzate per la produzione di più prodotti, in quanto vi è un aumentato rischio di contaminazione.

P = Presenza è un punteggio che può essere 1 oppure 0, per indicare la presenza o l'assenza di ciascuna alert structure considerata.

S = Criticità dello step è l'indicazione del numero dello step in cui l'alert structure compare lungo il processo produttivo, rispetto allo step finale (N), secondo la **Tabella 4**.

Tabella 3 Punteggi per la CATEGORIA 1 (su una scala da 1 a 10).

PUNTEGGIO	SIGNIFICATO
1 = Gravità bassa	la formazione di nitrosammine non è descritta in letteratura
5 = Gravità media	la formazione di nitrosammine è descritta in letteratura sotto condizioni particolari
10 = Gravità alta	la formazione di nitrosamine è altamente probabile

La **Amine Rilevability** si ottiene nel modo seguente:

$$G \text{ Amine} \times P \text{ Amine} \times S \text{ Amine}$$

G = Gravità è un punteggio applicato sulla base delle conoscenze scientifiche relative a ciascuna *alert structure*, al fine di indicare l'impatto di tale struttura sulla formazione del gruppo amminico secondario. L'approccio è lo stesso descritto per la Gravità di *Nitro Rilevability*.

P = Presenza è un punteggio che può essere 1 oppure 0, per indicare la presenza o l'assenza di ogni *alert structure* considerata e coinvolta nella formazione di ammine secondarie.

S = Criticità dello step è l'indicazione del numero dello step in cui l'alert structure compare lungo il processo produttivo, rispetto allo step finale (N), secondo la **Tabella 4**.

Tabella 4 Punteggi per la CRITICITÀ.

CRITICITÀ	N. DELLO STEP*
1 = Criticità bassa	(N - 6) e precedenti
2 = Criticità media	tra (N - 3) e (N - 5)
3 = Criticità alta	tra (N) e (N - 2)

* Gli step comprendono tutti gli step chimici e fisici, escluse le attività di finitura (essiccazione, macinazione o micronizzazione).

Addendum n: alla rilevabilità rilevabilità verificata per nitrocomposti e ammine, relativamente a ciascuna categoria, potrebbe essere aggiunto un ulteriore punteggio legato a uno dei seguenti casi:

1. Quando un'impurezza di degradazione contiene gruppi nitro e/o ammine secondarie.
 2. Quando nel processo produttivo viene utilizzato il carbone attivo.
 3. Quando nel processo produttivo vengono utilizzati materiali recuperati/riciclati (solventi, reagenti o catalizzatori).
 4. In assenza di informazioni dettagliate da uno o più fornitori di materiale impiegato.
- Il punteggio finale si ottiene sommando ogni punteggio parziale per ciascuna categoria. Sulla base delle indicazioni sopra citate, il potenziale rischio di formazione di impurezze da nitrosammine viene classificato secondo la **Tabella 5**.

Tabella 5 Classificazione del potenziale rischio di formazione di impurezze da nitrosammine.

ESITO	INDICAZIONE
≥ 401	il rischio è alto
201 - 400	il rischio è moderato
≤ 200	il rischio è trascurabile

STEP 2: Confirmatory testing and risk assessment report – test di conferma e report sulla valutazione del rischio

L'esecuzione dello Step 2, per i prodotti che hanno mostrato un rischio elevato, deve avere luogo immediatamente dopo la valutazione dello Step 1 e prevede innanzitutto la validazione del metodo analitico e l'esecuzione dei test di conferma. Durante lo Step 2, l'approccio è quello di emettere il report di valutazione del rischio utilizzando il modello messo a disposizione dall'APIC - *Active Pharmaceutical Ingredients Committee* - che è considerato completo ed esplicativo di tutti i fattori di rischio per la formazione di nitrosammine. Il report di valutazione del rischio dell'APIC, quando richiesto, dovrebbe essere condiviso con i MAH in modo che possano confermare la presenza o l'assenza del rischio, e informare le autorità.

Durante l'esecuzione dello Step 1 e dello Step 2, devono essere intraprese le seguenti azioni, nell'ambito delle azioni correttive e preventive, a seconda del rischio valutato.

RISCHIO ALTO: per gli API valutati con un alto rischio di formazione di nitrosammine, devono essere implementate le seguenti azioni:

- informare i clienti condividendo il report di valutazione del rischio;
- eseguire l'analisi di un numero di lotti commisurato al rischio; pertanto, in caso di probabile formazione in funzione del processo produttivo, deve essere verificata la presenza delle seguenti impurezze da nitrosammine (**Tabella 6**);
- valutare eventuali altre nitrosammine che si potrebbero formare durante il processo e non sono elencate sopra;
- validare il metodo analitico applicato e rilasciare il relativo report di convalida;
- fissare il limite di rilevabilità delle impurezze da nitrosammine (la linea guida EMA/425645/2020, aggiornata il 22 febbraio 2021 [8], definisce 4 nuovi scenari che possono verificarsi);
- effettuare un'indagine al fine di definire la causa principale della formazione di nitrosammine e proporre azioni correttive, opportunamente descritte in un apposito documento;
- gestire, sulla base delle azioni correttive implementate, eventuali modifiche importanti che interessano l'ASMF/DMF (*Active Substance Master File/Drug Master File*), secondo la linea guida EMA/369136/2020 [4].

RISCHIO MODERATO: per gli API valutati a rischio moderato di formazione di nitrosammine, devono essere messe in atto le seguenti azioni:

- controllare le condizioni di produzione che potrebbero portare alla formazione di nitrosammine al fine di confermare la valutazione del rischio;
- se il rischio si conferma moderato, assegnare al prodotto la giusta priorità subito dopo gli API per i quali il rischio è stato valutato alto;
- proseguire con la stessa procedura descritta per i prodotti ad alto rischio.

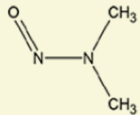
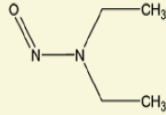
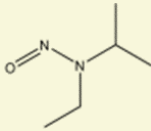
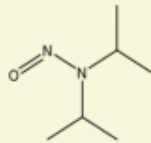
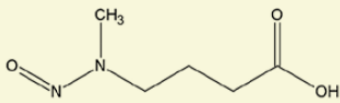
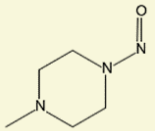
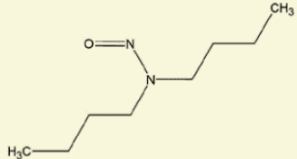
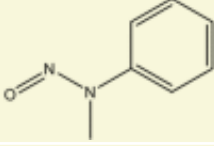
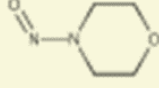
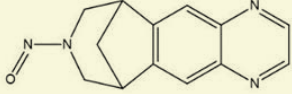
RISCHIO TRASCURABILE: per gli API valutati a rischio trascurabile di formazione di nitrosammine:

- verificare che ogni causa sia esclusa e che siano disponibili informazioni dai fornitori di *starting materials*, solventi e reagenti;
- se richiesto, informare i clienti, ad esempio condividendo il report di valutazione del rischio.

Lo Step 2 prevede l'esecuzione di test di conferma e/o ulteriori valutazioni del rischio di potenziale formazione di nitrosammine, per tutti gli API che presentano un rischio potenziale. L'approccio di Dipharma ai test di conferma si basa sulle linee guida dell'EMA. I limiti di potenziali nitrosammine sono stabiliti sulla base dell'assunzione accettabile – *Acceptable Intake* (AI) della nitrosamina in esame e della dose massima giornaliera – *Maximum Daily Dose* (MDD) dell'API, applicando la formula:

$$AI \text{ (ng/day)} / MDD \text{ (g/day)} = \text{ppb limit}$$

Tabella 6 Impurezze da nitrosammine.

NDMA – N-Nitrosodimethylamine	
NDEA – N-Nitrosodiethylamine	
EIPNA – N-Nitrosoethylisopropylamine	
DIPNA – N-Nitrosodiisopropylamine	
NMBA – N-Nitroso-N-methyl-4-aminobutyric acid	
MeNP – 1-Methyl-4-nitrosopiperazine	
NDBA – N-Nitroso-di-n-butylamine	
NMPA – N-Nitroso-N-methylaniline	
NMOR – N-Nitrosomorpholine	
NN 5 – N-Nitroso-varenicline	

Tutti i metodi analitici utilizzati in questo step devono essere sensibili e opportunamente validati. Il report di convalida deve essere emesso nel formato attualmente in uso. I test devono essere condotti sul 10% dei lotti annuali e su un minimo di 3 lotti all'anno (compresi i campioni conservati di lotti che non hanno ancora raggiunto la data di scadenza). Se vengono prodotti meno di 3 lotti all'anno, tutti i lotti devono essere testati.

Nel caso in cui durante lo Step 2 sia confermata la presenza di più di una nitrosammina, si possono utilizzare due approcci per stabilire i limiti [8]:

- l'assunzione giornaliera totale di tutte le N-nitrosammine identificate non deve superare il limite della più potente N-nitrosammina identificata;

- il livello di rischio totale della somma di tutte le N-nitrosammine rilevate non dovrebbe superare il rischio di 1 su 100.000 nel corso della vita.

La linea guida EMA/425645/2020 del 22 febbraio 2021 ha definito 4 scenari [8]:

Scenario a: una N-nitrosammina nota è stata rilevata in un medicinale e i livelli della N-nitrosammina superano il limite AI basato sui principi di ICH M7 (il rischio di 1 su 100.000 nel corso della vita). Lo stesso scenario si applica quando viene rilevata più di una N-nitrosammina nota e la somma totale delle N-nitrosammine supera il limite AI della N-nitrosammina più potente, o la somma di tutte le N-nitrosammine rilevate supera il rischio di 1 su 100.000 nel corso della vita. In caso di scenario a (una o più nitrosammine con un livello superiore al limite AI), è necessario agire immediatamente.

Scenario b: una N-nitrosammina nota è stata rilevata in un medicinale e il livello della N-nitrosammina non supera il limite AI basato sui principi di ICH M7 (il rischio di 1 su 100.000 nel corso della vita), tuttavia il contenuto totale della N-nitrosammina è superiore al 10% del limite AI. Lo stesso scenario si applica quando viene rilevata più di una N-nitrosammina nota e la somma totale delle N-nitrosammine non supera il limite AI della N-nitrosammina più potente, o la somma di tutte le N-nitrosammine rilevate è inferiore al rischio di 1 su 100.000 nella corso della vita. Lo scenario b include i casi in cui il livello di N-nitrosammina è superiore al 10% ma inferiore al 30% (in tal caso, se l'AI è costantemente inferiore al 30%, l'azienda può richiedere di non eseguire i test). La valutazione dovrebbe essere effettuata durante l'esecuzione dello Step 3.

Scenario c: nessuna N-nitrosammina è stata rilevata in un medicinale o il livello della N-nitrosammina nota è inferiore o uguale al 10% del limite AI basato sui principi di ICH M7. Lo stesso scenario si applica se è stata rilevata più di una N-nitrosammina nota e il contenuto totale delle N-nitrosammine è inferiore o uguale al 10% del limite AI basato sui principi di ICH M7 per la N-nitrosammina più potente o la somma di tutte le N-nitrosammine rilevate. Non sono previste ulteriori azioni.

Scenario d: una o più nuove N-nitrosammine sono state rilevate in un medicinale e non sono state ancora valutate ai sensi dell'articolo 5, paragrafo 3, da parte del CHMP. Deve essere eseguita la valutazione del rischio per decidere quale scenario - a, b oppure c - è applicabile.

Se, nonostante sforzi considerevoli, si dimostra che l'impurezza da nitrosammina non può essere sintetizzata, ciò potrebbe indicare che la nitrosammina non esiste o che non vi è alcun rischio che si formi durante il processo. In questi casi, potrebbe non essere necessario condurre test di conferma se ciò è adeguatamente giustificato dal punto di vista scientifico.

STEP 3 Risk mitigation measures and submission of changes - misure di mitigazione del rischio e presentazione di modifiche

Se la presenza di nitrosammina/e è confermata e le quantità presenti nel principio attivo superano i limiti prestabiliti, è necessario eseguire le azioni dello Step 3 ed mettere in atto efficaci misure di mitigazione del rischio (modifiche del processo produttivo e/o della formulazione del prodotto). Per quanto riguarda le azioni che potrebbero essere intraprese dal produttore dell'API, tali modifiche possono riguardare, ad esempio, la sostituzione del/i solvente/i o del/i reagente/i con altri, il cambio del tipo di acqua, la modifica delle fasi di purificazione. Eventuali modifiche devono sempre essere valutate sulla base delle caratteristiche del processo produttivo dell'API considerato.

Sono stati sviluppati molti metodi analitici per consentire la quantificazione del livello di nitrosammine nei principi attivi e nei medicinali. Tuttavia, ciascun metodo deve essere adattato individualmente al tipo di principio attivo e/o alla formulazione del prodotto finito. Pertanto, è sempre necessario sviluppare un metodo, così come le sue validazioni, in conformità con gli standard attuali.

Risultati e Discussione

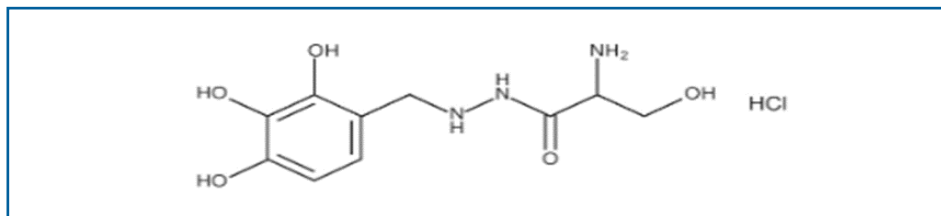
In questo studio sono descritti due casi, entrambi eseguiti applicando il "Protocollo di Valutazione del Rischio di presenza di Nitrosammine" di Dipharma. Il primo caso (Benserazide cloridrato) illustra bene l'esecuzione dello Step 1 (valutazione del rischio) e il secondo caso (Isosorbide-5-mononitrato) si concentra sull'esecuzione dello Step 2 (test di conferma).

CASE STUDY 1 – Benserazide cloridrato

La malattia di Parkinson è una malattia progressiva che colpisce il sistema nervoso centrale e provoca movimenti involontari o incontrollabili, come tremori, rigidità e difficoltà di equilibrio e coordinazione. Sebbene non possa essere curata, i farmaci potrebbero migliorare significativamente i sintomi. La levodopa (chiamata anche L-dopa) è il farmaco più comunemente prescritto per la malattia di Parkinson, ma esistono anche altri farmaci che, spesso in combinazione con la levodopa, aiutano a controllare i sintomi della malattia. La benserazide è uno di quei farmaci che possono migliorare la vita dei malati di Parkinson. La prima preparazione combinata (miscela di benserazide con L-Dopa) è arrivata sul mercato nel 1973.

La benserazide cloridrato in combinazione con la levodopa è usata per il trattamento dei pazienti affetti da malattia di Parkinson e da sindrome delle gambe senza riposo. La benserazide è un inibitore periferico della DOPA-decarbossilasi. Impedendo la conversione di levodopa in dopamina a livello periferico, provoca un aumento della quantità di L-dopa che raggiunge il sistema nervoso centrale. Inoltre, la benserazide riduce anche gli effetti collaterali associati a un possibile accumulo di dopamina al di fuori del cervello, come vasocostrizione, nausea e aritmie [9]. Viene somministrata per via orale. La benserazide cloridrato non ha un effetto antiparkinson quando somministrata da sola. La sua struttura chimica è mostrata in **Figura 1** e la sua formula molecolare è $C_{10}H_{16}ClN_3O_5$.

Figura 1
Struttura di benserazide cloridrato.



La benserazide cloridrato è un principio attivo di nuova produzione per Dipharma ed è destinato al mercato dei farmaci generici. Fino ad ora, la valutazione del rischio per la presenza di nitrosammine in questo principio attivo non era mai stata eseguita dall'azienda.

La valutazione del rischio per la potenziale presenza di nitrosammine è stata condotta tenendo conto della rilevabilità per gruppi nitro e gruppi amminici definita secondo gravità, presenza e criticità dello step. Durante l'esecuzione dello Step 1 è stato analizzato l'intero processo di sintesi della benserazide cloridrato, prendendo in considerazione tutti gli aspetti descritti nel paragrafo 'Metodi' e tutti i risultati sono stati riportati nella tabella 'matrice'.

La sintesi della benserazide cloridrato prevede 4 passaggi e coinvolge *starting materials*, reagenti, catalizzatori e solventi. Durante le fasi della sintesi si formano 3 intermedi e, al termine della quarta fase, si ottiene il prodotto finale. I risultati della valutazione vengono elencati di seguito.

CATEGORIA 1: alert structures in qualsiasi fase del processo produttivo. Per quanto riguarda gli agenti nitrosanti, nessuno di essi viene utilizzato nella sintesi, considerando tutte e quattro le fasi del processo produttivo. Sono state invece identificate le seguenti sostanze 'nitrosabili':

- La DL-serina, usata come *starting material* nella fase 1 della sintesi per ottenere l'intermedio BNS-1, è un'ammina primaria.
- L'idrazina idrato, utilizzata come reagente nella fase 2 per ottenere l'intermedio BNS-2, è un composto 'nitrosabile' ed è classificata come *alert structure*.
- L'API finale - benserazide cloridrato (BNS-4) – e gli intermedi BNS-1, BNS-2 e BNS-3 possiedono un gruppo amminico primario. Inoltre, l'API finale (BNS-4) e gli intermedi BNS-2 e BNS-3 possono essere considerati un'amide secondaria.
- L'impurezza A (corrispondente anche all'intermedio BNS-2), l'impurezza B e l'impurezza C (corrispondente anche all'intermedio BNS-3) presentano un gruppo amminico primario e, inoltre, l'impurezza 1 ha un gruppo amminico secondario. Inoltre, le seguenti impurezze possono essere considerate un'amide secondaria: Impurezza Acetyl Hydrazide, Impurezza B, Impurezza C, Impurezza Ciclo ND

1291-095, Impurezza 1.

Infine, il carbone attivo viene utilizzato come catalizzatore nella fase 4 della sintesi per ottenere l'API finale.

CATEGORIA 2: *alert structures* in qualsiasi starting material/intermedio o eccipiente utilizzati. Come già accennato in precedenza, nel processo produttivo della benserazide cloridrato eseguito da Dipharma non vengono utilizzati agenti nitrosanti e le *alert structures* relative alle sostanze 'nitrosabili' negli *starting materials* e negli intermedi sono state identificate come segue:

- La DL-serina, usata come *starting material* nella fase 1 per formare l'intermedio BNS-1, è un'ammina primaria, e anche gli intermedi BNS-1, BNS-2 e BNS-3 possiedono un gruppo amminico primario.
- Gli intermedi BNS-2 e BNS-3 possiedono un gruppo ammidico secondario.

Inoltre, basandosi sulle informazioni ricevute dai fornitori degli *starting materials* (DL-serina e triidrossibenzaldeide) e sulla via di sintesi, non è stato individuato alcun rischio di starting materials contaminati. Inoltre, nessun intermedio viene procurato dai fornitori e nessun eccipiente viene utilizzato nella sintesi.

CATEGORIA 3: *alert structures* in qualsiasi solvente utilizzato nel processo produttivo. Nessuna *alert structure* è presente nei solventi (metanolo, etanolo e isopropanolo) utilizzati per la sintesi del principio attivo benserazide cloridrato. Inoltre, tutti i solventi vengono utilizzati freschi, motivo per cui non è stato identificato alcun rischio di solventi contaminati.

CATEGORIA 4: *alert structures* in qualsiasi reagente/catalizzatore utilizzato nel processo produttivo. L'idrato di idrazina è considerato una *alert structure* e viene utilizzato come reagente nella fase 2 della sintesi per formare l'intermedio BNS-2. Basandosi sulle informazioni raccolte dal fornitore e sulla via di sintesi, non è stato identificato alcun rischio che l'idrato di idrazina impiegato sia contaminato. Inoltre, non sono presenti alert structures negli altri reagenti/catalizzatori utilizzati (cloruro di acetile, tetraidrofurano, Pd/C) e tutti i reagenti e catalizzatori vengono utilizzati freschi.

CATEGORIA 5: *alert structures* nel processo di trattamento delle acque. Durante il processo di produzione dell'API benserazide cloridrato viene utilizzata l'acqua demineralizzata. Inoltre, nel sito produttivo in cui viene prodotto il principio attivo possono essere utilizzate le seguenti tipologie di acqua: acqua potabile (opportunamente analizzata con i limiti di accettabilità stabiliti come segue: NMT 50 ppm per nitrati e NMT 0.10 ppm per nitriti), acqua di osmosi, acqua demineralizzata e acqua depurata (opportunamente analizzata con il limite per nitrati come segue: NMT 0.2 ppm). Inoltre, non viene effettuata l'aggiunta di clorammine. In queste circostanze il rischio attribuibile all'acqua è considerato trascurabile.

CATEGORIA 6: indicazione se le attrezzature utilizzate sono dedicate alla produzione di un singolo principio attivo o meno. Le attrezzature utilizzate vengono impiegate per il processo produttivo di diversi principi attivi (no sartani); tuttavia, sulla base delle procedure di pulizia convalidate ed applicate, è improbabile che sia presente il rischio di contaminazione crociata.

Al fine di facilitare la comprensione del contributo di ciascuna categoria al rischio complessivo, viene assegnata una classificazione parziale (**Tabella 7**).

I punteggi ottenuti sono presentati nella **Tabella 8**. Sulla base dei dati raccolti per la valutazione del rischio relativo alla benserazide cloridrato, il punteggio totale ottenuto è **120** e l'API è considerato a basso rischio (rischio trascurabile). Il punteggio ottenuto rende non necessaria l'esecuzione dello Step 2.

Tabella 7 Classificazione parziale.

	CATEGORIE 1-4	CATEGORIE 5-6
IMPATTO BASSO	≤30	≤3
IMPATTO MODERATO	31 - 64	4 - 9
IMPATTO ALTO	≥65	≥10

Tabella 8 Punteggi ottenuti.

CATEGORIA	RISCHIO DI FORMAZIONE DI NITROSAMMINE IDENTIFICATO	COMMENTO	PUNTEGGIO PARZIALE
1	MODERATO	Nel processo produttivo vengono utilizzati alcuni agenti 'nitrosabili' (ammine primarie e secondarie, ammidie secondaria) e anche il carbone attivo, tuttavia non sono presenti agenti nitrosanti. L'impatto è moderato.	57
2	BASSO	Nonostante la presenza di alcuni agenti 'nitrosabili' tra gli starting materials e gli intermedi, poiché nel processo produttivo non vengono utilizzati agenti nitrosanti, l'impatto è basso.	0
3	BASSO	Nei solventi utilizzati per la sintesi non sono presenti alert structures e tutti i solventi vengono usati freschi. Le dichiarazioni ufficiali dei fornitori sono disponibili parzialmente. L'impatto è basso.	27
4	BASSO	Nonostante la presenza di idrato di idrazina, utilizzato come reagente nella fase 2 della sintesi, poiché nel processo produttivo non sono presenti agenti nitrosanti, l'impatto è basso. Negli altri reagenti/catalizzatori utilizzati non sono presenti alert structures e tutti i reagenti e catalizzatori sono utilizzati freschi. Le dichiarazioni ufficiali dei fornitori sono disponibili parzialmente.	27
5	BASSO	Basandosi sulle informazioni disponibili, il rischio attribuibile all'acqua impiegata nella sintesi è considerato trascurabile. L'impatto è basso.	0
6	MODERATO	L'attrezzatura utilizzata viene impiegata per la sintesi di diversi principi attivi (no sartani). L'impatto è moderato.	9
TOTALE			120

Oltre agli aspetti descritti sopra, si aggiungono le seguenti osservazioni: gli operatori coinvolti nelle attività di produzione vengono adeguatamente formati e il materiale utilizzato per l'imballaggio primario è il polietilene, che non presenta alcun rischio di formazione di nitrosammine.

Le informazioni raccolte durante l'esecuzione dello Step 1 e riportate nella tabella 'matrice' sono utili per l'emissione del report di valutazione del rischio utilizzando il modello messo a disposizione dall'APIC. Nel caso della benserazide cloridrato, questo report è stato emesso affermando che il rischio di formazione di nitrosammine durante la produzione dell'API è trascurabile.

Il modello del "*Report on the Risk of Potential Presence of Nitrosamine Impurities*" è disponibile sul sito web dell'APIC [10]. Deve essere compilato per un principio attivo alla volta ed è conforme ai requisiti applicabili per la valutazione del rischio nell'ambito delle nitrosammine come specificato dalle autorità regolatorie competenti. È composto da 8 sezioni. La sezione 1 "Introduction - Introduzione" afferma che il questionario è stato preparato in linea con i requisiti dell'EMA e si basa anche sui requisiti della FDA statunitense e di altre autorità regolatorie come Health Canada. Nella sezione 2 "Scope - Campo di applicazione" è specificato quali punti dovrebbero essere valutati nel corso della valutazione del rischio e quali fonti di potenziale contaminazione da nitrosammine possono verificarsi. Nella sezione 3 "Manufacturing/process steps covered by risk evaluation - Fasi di produzione/processo coperte dalla valutazione del rischio" va descritto il processo di produzione dell'API. La sezione 4 "Risk evaluation methodology - Metodologia di valutazione del rischio" spiega che il metodo applicato per eseguire la valutazione del rischio tiene conto della rilevanza per gruppi nitro e amminici definita secondo le seguenti dimensioni: gravità, presenza e criticità dello step. La sezione 5 "Summary of items reviewed for the risk evaluation - Riepilogo degli elementi esaminati per la valutazione del rischio" elenca tutti i punti presi in considerazione durante la va-

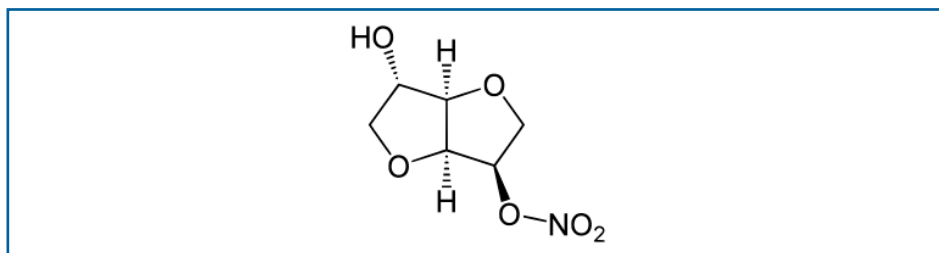
lutazione del rischio. I fattori di rischio sono suddivisi in tre categorie: fattori di rischio legati alla produzione del principio attivo; fattori di rischio legati anche al prodotto finito; fattori di rischio legati agli aspetti GMP. La sezione 6 “Risk outcome – Esito della valutazione del rischio” mostra il risultato ottenuto: il rischio della presenza di nitrosammine può essere dichiarato trascurabile oppure potenzialmente presente. Inoltre, vi è una tabella che elenca le impurezze da nitrosammine (se potenzialmente presenti), la fonte della contaminazione e le misure di mitigazione con i risultati dei test analitici. Nella sezione 7 “Additional information to support the risk evaluation by the drug product manufacturer/marketing authorization holder (MAH) - Ulteriori informazioni a supporto della valutazione del rischio del fabbricatore del prodotto farmaceutico/titolare dell'autorizzazione all'immissione in commercio (MAH)” il produttore dell'API deve indicare se è probabile che gli agenti nitrosanti non siano presenti nell'API finale o, al contrario, vi sia un rischio dovuto alla potenziale presenza di agenti nitrosanti nell'API finale. La stessa dichiarazione deve essere fatta per le sostanze ‘nitrosabili’. Tutti gli agenti nitrosanti e/o sostanze ‘nitrosabili’ rilevati devono essere elencati nelle tabelle della sezione 7. Nella sezione 8 “Changes in manufacturing process with potential impact on nitrosamine impurity formation - Modifiche al processo produttivo con potenziale impatto sulla formazione di impurezze da nitrosammine” si sottolinea che, in caso di modifiche al processo produttivo, starting materials, fornitori ecc. che possono influenzare questa valutazione del rischio, tale impatto sarà valutato, la valutazione sarà rivista quando necessario e i clienti saranno informati del risultato [10].

CASE STUDY 2 – Isosorbide-5-mononitrato

Il principio attivo isosorbide-5-mononitrato (IS5MN) appartiene a un gruppo di farmaci chiamati nitrati organici. Agisce rilassando i vasi sanguigni e facilitando il flusso di sangue e ossigeno al cuore riducendone il carico di lavoro. È indicato per la terapia di mantenimento dell'insufficienza coronarica, nella prevenzione degli attacchi di angina pectoris, nel trattamento di recupero della funzionalità cardiaca dopo un infarto e nel trattamento dell'insufficienza cardiaca cronica. L'isosorbide-5-mononitrato agisce come profarmaco per l'ossido nitrico (NO) che è un potente vasodilatatore [9]. La somministrazione avviene per via orale. La struttura chimica dell'isosorbide-5-mononitrato è mostrata in **Figura 2** e la sua formula molecolare è $C_6H_9NO_6$.

L'isosorbide-5-mononitrato è un principio attivo prodotto da Dipharma. La valutazione del rischio per la presenza di nitrosammine per questo API è stata effettuata dall'azienda subito dopo l'inizio dell'emergenza nel 2018. Il punteggio totale ottenuto durante la valutazione dello Step 1 era **222** e l'API era perciò considerato a rischio moderato. Per questo motivo il rischio di formazione di nitrosammine in IS5MN (puro e diluito) è stato definito potenzialmente presente. Possibili impurezze da nitrosammine erano NDMA, NDEA e NED3A. Come già spiegato, la procedura di valutazione del rischio è composta da 3 step e, se durante il primo step la valutazione individua il rischio della presenza di nitrosammine, è necessario procedere con lo Step 2 per effettuare le analisi per poter confermare la presenza della presunta nitrosammina nel principio attivo e stabilire se le eventuali quantità presenti superano i limiti stabiliti. Nel caso specifico dell'isosorbide-5-mononitrato, dopo aver eseguito i test di conferma durante lo Step 2, è stato dimostrato che il rischio della presenza di nitrosammine nell'API (puro e diluito) era improbabile: i dati analitici ottenuti hanno dimostrato che tutti i risultati erano inferiori al 10% del limite calcolato in tutti i casi (NDMA, NDEA, NED3A). L'esecuzione dello Step 2 ha consentito di riclassificare il rischio come trascurabile. Per quanto riguarda le nitrosammine NDMA e NDEA, sono state eseguite le seguenti analisi nell'ambito dei test di conferma dello Step 2:

Figura 2
Struttura di
isosorbide-5-mononitrato.



- Secondo la policy di Dipharma, la presenza di nitrosammine NDMA e NDEA è sempre verificata nei prodotti con il potenziale rischio di presenza e l'eventuale presenza viene verificata mediante specifici metodi validati. Sebbene le analisi fossero già state eseguite, sono state ripetute internamente considerando il 10% del limite accettabile in base all'AI (**Tabella 9**).

I limiti sono stati stabiliti sulla base dell'assunzione accettabile (AI) delle due nitrosammine in esame e della dose massima giornaliera (MDD) di isosorbide-5-mononitrato applicando la seguente formula:

$$AI/MDD = \text{ppb limit}$$

Dove:

AI = ng/day

MDD = g/day

Tabella 9 Calcolo dei limiti per NDMA e NDEA.

Nitrosammina	AI (ng/day) (EMA)	MDD (g/day) isosorbide-5-mononitrato (Drugs.com)	Limite ppb
NDMA	96	0,24	400
NDEA	26,5	0,24	110

I limiti stabiliti sono i seguenti: NDMA NMT 400 ppb; NDEA NMT 110 ppb.

Lo screening dei lotti eseguito su 19 diversi lotti di isosorbide-5-mononitrato su un periodo di produzione di cinque anni ha mostrato che sia NDMA che NDEA erano al di sotto dei limiti di rivelabilità o detezione (LOD) in tutti i casi testati (NDMA: LOD = 12 ppb; NDEA: LOD = 3,3 ppb). Pertanto, i risultati erano conformi allo 'scenario c' menzionato nella linea guida EMA, che riporta che in caso di nitrosammina non rilevata o con AI ≤10% non sono necessarie ulteriori azioni.

Relativamente alla nitrosammina NED3A, nell'ambito dei test di conferma dello Step 2, sono state adottate le seguenti misure di mitigazione:

- È stata eseguita una valutazione in-silico della genotossicità per l'ipotetica impurezza da nitrosammina NED3A che poteva formarsi nel processo produttivo dell'A-PI isosorbide-5-mononitrato. Sono state applicate due metodologie complementari (Q)SAR (*Quantitative structure-activity relationship*) come indicato dalle linee guida ICH M7. Le metodologie complementari ('*expert rule-based*' e '*statistical*') applicate sono state: TEST di EPA e Piattaforma VEGA dell'Istituto Mario Negri. Questi software regolatori vengono utilizzati per identificare gli *alert* strutturali di mutagenicità, eventuali meccanismi di genotossicità e per prevedere la potenziale genotossicità di sostanze senza dati sperimentali. Dopo una valutazione dettagliata, l'impurezza NED3A è risultata mutagena ed è stata assegnata alla Classe 3. Secondo il capitolo 6 de "la linea guida ICH M7 (R1) sulla valutazione e il controllo delle impurezze reattive di DNA (mutagene) nei prodotti farmaceutici per limitare il potenziale rischio cancerogeno", la definizione di impurezza della Classe 3 corrisponde a: *alert structure*, non correlata alla struttura del farmaco, nessun dato di mutagenicità. In questo caso l'azione proposta per il controllo è: un controllo pari o inferiore ai limiti accettabili (TTC appropriato - *Threshold of Toxicological Concern*) o l'esecuzione di un test di mutagenicità batterica. Possono verificarsi 2 casi diversi:
 - se mutagena: l'impurezza deve essere riclassificata in Classe 2, che corrisponde a mutageni noti con la potenziale attività cancerogena sconosciuta; l'azione proposta è: un controllo pari o inferiore ai limiti accettabili;
 - se non mutagena: l'impurezza deve essere riclassificata in Classe 5, che corrisponde a nessun alert strutturale, o una *alert structure* con dati sufficienti per dimostrare l'assenza di mutagenicità o cancerogenicità; l'azione proposta è: trattarla come un'impurezza non mutagena;
- È stato condotto uno studio preliminare per sviluppare il metodo LC/MS per la quantificazione di NED3A nell'isosorbide-5-mononitrato prodotto da Dipharma. I risultati ottenuti dallo screening dei lotti hanno mostrato un contenuto di NED3A inferiore a 30 ppb con l'eccezione di un caso in cui il contenuto era di 50 ppb.
- Al fine di definire la migliore strategia da applicare e seguendo l'approccio della linea guida ICH M7, Dipharma ha deciso di eseguire il test di Ames, che fungeva da lettura qualitativa per la potenziale attività mutagena dell'impurezza NED3A,

basandosi sull'azione proposta per il controllo di impurezze di Classe 3 definite nella linea guida. In caso di potenziale attività mutagena confermata dal test di Ames, il limite da applicare è di 18 ng/giorno. Al contrario, in caso di potenziale attività non mutagena confermata, l'impurezza deve essere trattata secondo le indicazioni della linea guida ICH M7, riferite alla classe corrispondente. Il test di Ames eseguito ha mostrato un chiaro risultato negativo e non sono state intraprese ulteriori indagini. E' stato concluso che la nitrosammina NED3A non induceva la mutazione inversa in *Salmonella typhimurium* o *Escherichia coli* sia in assenza che in presenza dell'estratto di fegato di ratto S9, un enzima epatico in grado di attivare metabolicamente i mutageni nelle condizioni sperimentali riportate. Secondo le indicazioni riportate dalla linea guida ICH M7 (R1): "un test di mutagenicità batterica negativo opportunamente condotto annullerebbe qualsiasi preoccupazione basata sulla struttura e non si raccomandano ulteriori valutazioni di genotossicità. Tali impurezze devono essere considerate non mutagene (Classe 5)." Pertanto, secondo le indicazioni della linea guida ICH M7 (R1), la nitrosammina NED3A è stata trattata come non mutagena.

- In base a quanto sopra, l'impurezza NED3A poteva essere trattata come una potenziale impurezza ordinaria, con un limite NMT 0,10%. Successivamente sono stati condotti ulteriori studi impiegando un metodo HPLC adeguato e validato, considerando i seguenti limiti:

Specification limit (limite di specifica) = NMT 0,10%

LOQ = 0,005% (limite di quantificazione)

LOD = 0,0015% (limite di rivelabilità o detezione)

Lo screening dei lotti è stato eseguito su 19 lotti industriali dell'API coprendo un periodo di produzione di cinque anni (dal 2015 al 2020). Sulla base dei risultati dei test analitici, NED3A era al di sotto del limite di detezione in tutti i lotti testati e quindi soddisfaceva il limite accettabile di NMT 0,10%. Pertanto, non sarebbe stato necessario effettuare i test di routine sull'API.

Nel 2022 è stato affermato esplicitamente che le autorità regolatorie non avrebbero accettato un test di Ames negativo come unica prova dell'assenza di proprietà mutagene di una nitrosammina. Il test di Ames è un test biologico per valutare la potenziale attività mutagena dei composti chimici e viene utilizzato per determinare l'attività mutagena dei prodotti chimici osservando se causano mutazioni nei batteri [11]; tuttavia, alcune nitrosammine mostrano la mutagenicità in vivo nonostante l'esito negativo del test di Ames. A quel punto, poiché il test di Ames utilizzato per l'analisi della nitrosammina NED3A non era più ritenuto sufficiente, Dipharma ha dovuto effettuare un'ulteriore valutazione della nitrosammina con un metodo diverso per confermare che il limite fosse accettabile. Al posto del test di Ames, sono state intraprese le seguenti azioni:

- La valutazione della presenza della nitrosammina NED3A nell'isosorbide-5-mononitrato è stata ripetuta con un metodo analitico più performante. Questo metodo, infatti, ha permesso di ottenere dati più robusti e di raggiungere il 10% del limite basato sull'AI. Per questo screening si è deciso di testare solo i lotti recenti in quanto erano quelli disponibili e quelli prodotti secondo l'attuale processo produttivo. Il limite è stato stabilito sulla base dell'AI della nitrosammina in esame e della MDD di IS5MN applicando la formula (**Tabella 10**):

$$AI/MDD = ppb \text{ limit}$$

Tabella 10 Calcolo del limite per NED3A.

Nitrosammina	AI (ng/day) (EMA)	MDD (g/day) isosorbide-5-mononitrato (Drugs.com)	Limite ppb
NED3A	18	0.24	75

Il limite stabilito è il seguente: NED3A NMT 75 ppb.

La convalida è stata eseguita come un test limite al 10% del limite target (NED3A = 7.5 ppb), il limite corrispondente al LOQ del metodo. Il LOD è stato fissato a 1/3 dello standard di 7.5 ppb (2.5 ppb). Lo screening eseguito su 10 lotti ha evidenziato l'assenza della nitrosammina (<7.5 ppb) in tutti i campioni esaminati. Il test eseguito in questo studio e i dati raccolti hanno dimostrato che la procedura analitica LC/MS sviluppata per la quantificazione di NED3A nell'isosorbide-5-mononitrato era adatta

allo scopo previsto. Lo screening eseguito su 10 lotti recenti e prodotti nello stabilimento di produzione di Dipharma ha mostrato che il contenuto di NED3A era sempre inferiore a 7.5 ppb, ovvero il 10% del limite calcolato (75 ppb).

La nuova conclusione coincide con la precedente: il rischio della presenza di nitrosammine nell'isosorbide-5-mononitrato (puro e diluito) si è dimostrato improbabile sulla base della conferma dell'assenza delle nitrosammine riportate durante l'esecuzione dello Step 1, come risultato da dati analitici che dimostrano che tutti i valori sono inferiori al 10% del limite calcolato in tutti i casi (NDMA, NDEA, NED3A). Sulla base delle evidenze raccolte, il rischio di presenza di nitrosammine nell'API isosorbide-5-mononitrato è stato ridefinito come trascurabile e i dati forniti dalle nuove analisi hanno consentito di aggiornare il report di valutazione del rischio [10].

Aspetti regolatori – ASMF/DMF E CEP

Il report sulla valutazione del rischio è essenziale per consentire ai MAH di condurre la propria valutazione del rischio del prodotto finito ed è utilizzato anche nella stesura dell'*Active Substance Master File* (ASMF), chiamato anche *Drug Master File* (DMF) - una sezione specifica del dossier che fornisce dati completi su un principio attivo (chimica, produzione, stabilità, purezza, profilo di impurezze, confezionamento, aspetti cGMP). L'ASMF/DMF è presentato all'autorità regolatoria competente ed è diviso in 2 parti: *Applicant's Part* (USA: Open Part), che contiene tutte le informazioni necessarie per il titolare per valutare la qualità e presentare una domanda per un'autorizzazione o una modifica, e *Restricted Part* (US: Closed Part), che contiene informazioni riservate sulla procedura di produzione e sulla sua convalida, divulgate solo alle autorità. Le informazioni sulla valutazione del rischio per la presenza di nitrosammine possono essere trovate nella sezione '*Impurity Profile*' dell'ASMF/DMF [12][13]. Inoltre, le informazioni raccolte grazie alle analisi effettuate sono utili per l'ottenimento del CEP - *Certificate of Suitability to European Pharmacopoeia* (un certificato disponibile solo per i principi attivi presenti nella Farmacopea Europea). Il CEP rappresenta uno dei tre modi per fornire le informazioni su un principio attivo. L'autorità di emissione è la EDQM - *European Directorate for the Quality of Medicines*, e il titolare del CEP - il produttore dell'API - è responsabile della sua applicazione e dell'intero ciclo di vita del documento. Il CEP è facoltativo e non obbligatorio per gli API presenti nella Farmacopea Europea. Il certificato consente al produttore di un principio attivo di dimostrare che la qualità di tale principio attivo è controllata secondo la relativa monografia. Il CEP è accettato in tutti gli stati membri dell'Unione Europea e da tutti gli stati che hanno aderito alla Convenzione per l'elaborazione di una Farmacopea europea - *Convention for the creation of a European Pharmacopoeia* (compreso il Regno Unito) [14].

Conclusioni

Le prime informazioni sugli effetti teratogeni, mutageni e genotossici delle nitrosammine sono apparse a metà del XX secolo. Fonti di nitrosammine nell'ambiente umano sono, ad esempio, salumi, carni trasformate, acqua potabile, fumo di tabacco e alcune materie plastiche. La scoperta della presenza di nitrosammine in alcuni medicinali è stata accolta con grande preoccupazione nel 2018 [15] e da allora si è reso necessario ritirare dal commercio migliaia di prodotti farmaceutici in tutto il mondo a causa della presenza inaspettata di nitrosammine.

Oltre alla classe farmacologica dei sartani, anche i farmaci antidiabetici, gli antistaminici e gli antibiotici sono stati oggetto di indagine [16].

La prima categoria di farmaci in cui è stata dimostrata la presenza di composti cancerogeni sono stati i sartani (valsartan, losartan, irbesartan) e successivamente anche metformina, ranitidina, nizatidina, rifapentina e rifampicina [16].

Le indagini effettuate hanno dimostrato che nel caso dei sartani le nitrosammine erano delle impurezze del processo di sintesi, formatesi nella fase di formazione dell'anello tetrazolico da azidi organici o inorganici. Nel caso degli antibiotici macrolidi del gruppo delle ansamicine le nitrosammine erano sempre delle impurezze legate al processo di sintesi, e nel caso di metformina, ranitidina e nizatidina risultavano essere prodotti di degradazione di composti medicinali [15].

Quando si scoprì che le nitrosammine potevano essere presenti in alcuni farmaci che erano in uso nel trattamento dell'ipertensione già da più di 5 anni, cioè dall'ultima modifica della sintesi da parte del produttore del farmaco, furono condotti studi os-

servazionali retrospettivi che hanno portato ad accertare il livello di rischio di cancro associato all'assunzione di preparati contaminati [15].

È importante sottolineare che le impurezze da nitrosammine possono essere introdotte in un prodotto farmaceutico in diverse fasi del processo produttivo perché i possibili contaminanti potrebbero provenire da una varietà di fonti: principio attivo, eccipienti, solventi, degradazione del prodotto o imballaggio.

L'EMA ha sviluppato un piano d'azione per i medicinali per valutare il rischio di formazione di nitrosammine. La procedura è composta da 3 passaggi. Il primo prevede la valutazione del rischio della presenza di nitrosammine. In caso di rischio rilevato, il secondo passaggio prevede lo svolgimento di analisi volte a confermare o smentire le ipotesi relative alla presenza di nitrosammine. L'ultimo passaggio, se risulta necessario, prevede delle modifiche al processo produttivo e l'introduzione di controlli per ridurre la presenza di nitrosammine.

Grazie agli sforzi delle autorità, dei produttori di principi attivi e dei produttori di prodotti finiti, è stato possibile creare metodi validi ed efficaci per effettuare un'analisi di rischio affidabile che consenta di identificare il possibile rischio di formazione di nitrosammine nei medicinali. Inoltre, questi rischi, quando individuati, possono essere evitati, garantendo la tutela della salute dei pazienti la cui vita dipende spesso dalla terapia farmacologica.

Bibliografia

- [1] Nitrosamines – USP standards and solutions respond to drug recalls. Available at: <https://www.usp.org/small-molecules/nitrosamine-impurities> [Accessed December 2022].
- [2] Nitrosamine impurities in medicines: what's the risk? Available at: <https://qualitymatters.usp.org/nitrosamine-impurities-medicines-whats-risk> [Accessed December 2022].
- [3] Questions and answers for marketing authorization holders/applicants on the CHMP Opinion for the Article 5(3) of Regulation (EC) No 726/2004 referral on nitrosamine impurities in human medicinal products. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-questions-answers-marketing-authorisation-holders/applicants-chmp-opinion-article-53-regulation-ec-no-726/2004-referral-nitrosamine-impurities-human-medicinal-products_en.pdf [Accessed December 2022].
- [4] Assessment report, Procedure under Article 5(3) of Regulation EC (No) 726/2004, Nitrosamine impurities in human medicinal products. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-assessment-report_en.pdf [Accessed December 2022].
- [5] Control of Nitrosamine Impurities in Human Drugs. Available at: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/control-nitrosamine-impurities-human-drugs> [Accessed December 2022].
- [6] Li K, Ricker K, Feng C, Tsai, Chingyi J, Hsieh, Osborne G, Meng Sun, Marder ME, Elmore S, Schmitz R, Sandy MS. Estimated Cancer Risks Associated with Nitrosamine Contamination in Commonly Used Medications. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18(18): 9465.
- [7] Nitrosamines Risk Assessment Protocol – Rev. 01 – Dipharma Francis srl. 2021.
- [8] European Medicines Regulatory Network approach for the implementation of the CHMP Opinion pursuant to Article 5(3) of Regulation (EC) No 726/2004 for nitrosamine impurities in human medicines. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/european-medicines-regulatory-network-approach-implementation-chmp-opinion-pursuant-article-53/2004-nitrosamine-impurities-human-medicines_en.pdf [Accessed December 2022].
- [9] Goodman LS, Gilman A. *The Pharmacological Basic of Therapeutics*. Editors: Brunton L, Chabner B, Knollman B, 12th Edition, New York, 2011; 615, 747-751, 753.
- [10] <https://apic.cefic.org/publication/nitrosamines> [Accessed December 2022].
- [11] Vijay U, Gupta S, Mathur P, Suravajhala P, Bhatnagar P. Microbial Mutagenicity Assay: Ames Test. *Bio Protoc*. 2018; 8(6): e2763.
- [12] Active substance master file procedure - Scientific guideline. Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/active-substance-master-file-procedure-scientific-guideline> [Accessed March 2023].
- [13] Drug Master Files (DMFs). Available at: <https://www.fda.gov/drugs/forms-submission-requirements/drug-master-files-dmfs> [Accessed March 2023].
- [14] The European Pharmacopoeia and certificates of suitability (CEP). Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/presentation/presentation-european-directorate-quality-medicines-healthcare-edqm-european-pharmacopoeia_en.pdf [Accessed February 2023].
- [15] Dominiak K, Lewandowska M, Dettlaff K. Nitrosamines in medicinal products. *Farm Pol*. 2022; 78(3): 151-158.
- [16] Schmidtsdorff S, Neumann J, Schmidt A H, Parr M K. Risk assessment for nitrosated pharmaceuticals: A future perspective in drug development. *Arch Pharm*. 2022; 355(4).