

Estudios de tiempo de espera para el análisis de muestras y pruebas por lotes: consideraciones para maximizar la eficiencia de las endotoxinas

Nota de aplicación

Introducción

Esta nota de aplicación describe las “pruebas por lotes” y los tiempos de retención de las muestras en lo que se refieren a las pruebas de endotoxinas y explica cómo se pueden realizar estudios simples para maximizar la eficiencia. No todos los laboratorios de control de calidad o de investigación y desarrollo en laboratorios de alto rendimiento, lo que significa que solo reciben unas pocas muestras por día o unas pocas muestras por semana que requieren pruebas de Lisado de Amebocitos de Limulus (LAL). Por lo tanto, para que las pruebas LAL sean más económicas y eficientes, algunos laboratorios “agrupan” o retienen sus muestras hasta que tienen suficiente a mano para utilizar una placa completa de 96 pocillos o una microplaca Sievers* Eclipse. Esto les permite consolidar sus pruebas y no desperdiciar LAL, un reactivo costoso.

La importancia de determinar los tiempos de espera adecuados

Si bien las pruebas por lotes pueden mejorar la eficiencia y reducir los costos, los laboratorios a menudo tienen procedimientos internos descritos en sus Procedimientos Operativos Estándar (SOP) que requieren que las muestras se analicen para detectar endotoxinas dentro de un período de tiempo específico (por ejemplo, 24 horas después de la recepción o el muestreo). Estos plazos pueden limitar la capacidad de los laboratorios pequeños para agrupar o conservar sus muestras, y pueden ser más restrictivos de lo necesario. Analizar muestras dentro de un período de tiempo determinado no es un requisito reglamentario, pero es un requisito general de Buenas Prácticas de Fabricación (GMP) para establecer un período de tiempo apropiado para analizar muestras que no produzca pérdida de endotoxina si hubiera alguna presente. Estos se denominan tiempos de espera. De este modo, la realización de estudios de tiempos de espera y la determinación de tiempos de espera adecuados proporcionarán información fundamental para equilibrar las necesidades relacionadas

con la calidad, los costos y la eficiencia. Los estudios de tiempos de espera también son útiles al enviar muestras a un laboratorio contratado para su análisis a fin de determinar el tiempo necesario para obtener los resultados.

Realización de estudios de tiempo de espera para pruebas de endotoxinas

Para aprovechar al máximo el reactivo LAL, el costo de los consumibles y la utilización de una microplaca, se puede realizar un estudio simple del tiempo de espera para determinar y confirmar que no habrá pérdida de endotoxina si una muestra se almacena para pruebas por lotes durante más de 24 horas. Los estudios de tiempo de retención están diseñados para guiar a los laboratorios de control de calidad en sus POE para determinar la cantidad de tiempo que se puede retener una muestra antes de analizarla¹. Un atributo importante para un estudio de tiempo de espera es un contenedor de almacenamiento de muestras. Para las pruebas de endotoxinas, las muestras deben recolectarse y almacenarse en un recipiente apropiado que no interfiera con la prueba LAL ni absorba la endotoxina. Se sabe que los recipientes de polipropileno adsorben endotoxinas y el mejor recipiente de muestras para este fin es el poliestireno o el vidrio de borosilicato.



Se debe realizar un estudio de tiempo de espera con un mínimo de cuatro puntos de tiempo para garantizar resultados válidos y precisos². Estos pueden ser el día 0, el día 1, el día 3 y el día 7. Se pueden utilizar muestras de agua, muestras en proceso, materias primas e incluso muestras de productos farmacéuticos finales para un estudio del tiempo de espera para determinar el tiempo apropiado que se puede almacenar. Muestras antes de realizar la prueba. A cada muestra que se vaya a analizar para el estudio del tiempo de espera, se le añadirá una concentración conocida de endotoxina. Se recomienda que un usuario aumente con una concentración mínima en el punto medio de la curva estándar; sin embargo, cuanto mayor sea la concentración, más probabilidades tendrá el usuario de recuperarse dentro del doble de esa concentración. Como ejemplo, El Informe Técnico No. 82 de la Asociación de Medicamentos Parenterales (PDA), TR 82, establece que añadir 5 UE/mL². Estas muestras se analizarán en todos los momentos sugeridos para medir y confirmar que no hay pérdida de endotoxina.

La principal preocupación de conservar muestras sin realizar dicho estudio es un posible falso negativo en una muestra a lo largo del tiempo que podría generar riesgos para la seguridad del paciente. Una vez confirmado que no hay pérdida de endotoxinas durante 7 días, un laboratorio puede implementar un nuevo tiempo de retención o requisito de prueba en su SOP que les permita retener muestras hasta por 7 días para analizar todas las muestras a la vez en lugar de unas pocas muestras a lo largo de la semana.

Aumento de la eficiencia con el Sievers Eclipse

Sievers Eclipse es una plataforma de prueba de endotoxinas totalmente compatible que se alinea con los requisitos compendiales descritos en USP <85>, EP 2.6.14 y JP 4.01 y contiene una curva estándar integrada con cinco (5) concentraciones elaboradas con endotoxina estándar de referencia (RSE) que oscilan entre 50 y 0,005 UE/ml por triplicado, junto con controles positivos de producto (PPC) integrados para cada muestra. Es una solución de endotoxinas de alto rendimiento donde los usuarios actuales y potenciales podrían beneficiarse al maximizar la cantidad de muestras que se analizarán durante una sesión de prueba determinada.

Los usuarios que tienen o implementarán un período de espera prolongado para las muestras pueden utilizar el método de congelación y descongelación del reactivo LAL al realizar pruebas en el Eclipse.

Se ha demostrado que congelar LAL después de la reconstitución inicial y usarlo más adelante para realizar pruebas de muestras en el Eclipse proporciona resultados consistentes.³

Conclusión

Como es una recomendación de GMP establecer tiempos de espera adecuados para las pruebas de muestras, los usuarios pueden ejecutar un estudio simple para maximizar la eficiencia en el laboratorio de control de calidad en términos de rendimiento de muestras con un tiempo práctico mínimo.

Referencias

1. H. Skalski. Consideraciones del estudio sobre el tiempo de retención de la recuperación de endotoxinas bajas. Laboratorios Charles River, abril de 2020.
2. Informe Técnico PDA No. 82. Baja Recuperación de Endotoxinas. PDA, 2019.
3. Evaluación del almacenamiento de reactivos LAL mediante la plataforma Sievers Eclipse BET. Instrumentos analíticos Sievers, 2022.