	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN VALIDACIÓN DE LA PRUEBA DE ENDOTOXINA BACTERIANA EN PRODUCTOS NUEVOS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-098-08
		Versión: 08
		Vigencia: 15/06/2023 Vencimiento: 15/06/2025
		Página 1 de 5

1. PROPÓSITO

Establecer la forma de llevar a cabo la validación de la prueba de endotoxina bacteriana en productos nuevos para demostrar que la muestra de producto a analizar no inhibe la reacción de coagulación del método de prueba.

2. ALCANCE

Este procedimiento aplica sobre pruebas de endotoxina bacteriana que se realicen en el Laboratorio de Microbiología a productos nuevos inyectables desarrollados por Investigación & Desarrollo.

3. DOCUMENTOS RELACIONADOS

CÓDIGO	NOMBRE DEL DOCUMENTO
PEO-AC-079	Prueba de endotoxina bacteriana en productos inyectables y materias primas

4. DEFINICIONES

Validación: Establecimiento de la evidencia documental que un procedimiento analítico conducirá con un alto grado de seguridad a la obtención de resultados precisos y exactos dentro de las especificaciones y atributos de calidad previamente establecidos.

Validación de un procedimiento analítico: Procedimiento para establecer pruebas documentales que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales.

5. RESPONSABILIDAD Y AUTORIDAD

RESPONSABILIDAD


Auxiliares de Microbiología: Son los responsables de llevar a cabo lo descrito en éste procedimiento.

Jefe de Microbiología: Tiene la responsabilidad de velar por el cumplimiento de éste procedimiento.

AUTORIDAD

Jefe de Microbiología: Tiene la autoridad de realizar cualquier cambio requerido en éste procedimiento.

Elaborado por: Jefe de Microbiología	Firma:	Fecha: 15/06/2023
Revisado por: Asistente de Documentación	Firma:	Fecha: 15/06/2023
Aprobado por: Gerente de Aseguramiento de calidad	Firma:	Fecha: 15/06/2023

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN VALIDACIÓN DE LA PRUEBA DE ENDOTOXINA BACTERIANA EN PRODUCTOS NUEVOS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-098-08
		Versión: 08
		Vigencia: 15/06/2023 Vencimiento: 15/06/2025
		Página 2 de 5

6. CONTENIDO

6.1 Materiales

- 6.1.1 Lisado de amebocitos de cangrejo con sensibilidad de 0.250 UE/mL.
- 6.1.2 Control estándar de endotoxina de E.
- 6.1.3 Buffer para prueba de endotoxina
- 6.1.4 Agua libre de endotoxinas.
- 6.1.5 Tubos de reacción despirogenizados, 10x15 mm.
- 6.1.6 Tubos para centrífuga de poliestireno, estériles y despirogenizados con tapón de rosca de 15 ml.
- 6.1.7 Tips despirogenizados, para 1-200 µl.
- 6.1.8 Tips despirogenizados, para 50-1000 µl
- 6.1.9 Papel parafilm M
- 6.1.10 Pipeta automática de 100 µl.
- 6.1.11 Pipeta automática de volumen variable 100-1000 µl.
- 6.1.12 Gradilla para tubos de 10x15 mm.
- 6.1.13 Cofia
- 6.1.14 Mascarilla
- 6.1.15 Guantes de látex
- 6.1.16 Marcador permanente

6.2 Equipo


- 6.2.1 Vortex o agitador.
- 6.2.2 Baño de María a $37^{\circ}\text{C} \pm 1$
- 6.2.3 Cronómetro
- 6.2.4 Gradilla para tubos de 10x15 mm.
- 6.2.5 Cofia
- 6.2.6 Mascarilla
- 6.2.7 Guantes de látex
- 6.2.8 Marcador permanente

6.3 Determinación del límite de endotoxina y MVD de un producto

Llevar a cabo el cálculo del límite de endotoxina del producto y la máxima dilución válida (MVD) como se indica en el **PEO-AC-079 Prueba de endotoxina bacteriana en productos inyectables y materias primas.**

6.4 Desarrollo de la prueba

- 6.4.1 La prueba de endotoxina bacteriana se llevará a cabo en la sala 700 del Laboratorio de análisis microbiológico.
- 6.4.2 Encender el baño de María.

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN VALIDACIÓN DE LA PRUEBA DE ENDOTOXINA BACTERIANA EN PRODUCTOS NUEVOS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-098-08
		Versión: 08
		Vigencia: 15/06/2023 Vencimiento: 15/06/2025
		Página 3 de 5

- 6.4.3 Retirar de refrigeración los reactivos previamente reconstituidos según el **PEO-AC-080 Control de calidad de la prueba de endotoxina**. Anotar la temperatura de la refrigeradora para el almacenamiento de los reactivos en el **FO-AC-029 Control de temperatura y humedad de equipo de Aseguramiento de calidad, Investigación y desarrollo y Microbiología**.
- 6.4.4 Para validar la prueba de endotoxina bacteriana en un producto nuevo, se debe realizar la prueba de inhibición o potenciación de la muestra con una dilución menor que la máxima dilución válida (MVD) que no contenga endotoxinas detectables.
- 6.4.5 Se realiza de acuerdo a las Tablas 1 y 2 de la sección de anexos correspondientes al **FO-AC-120 Reporte de validación de la prueba de endotoxina bacteriana en productos nuevos**.
- 6.4.6 La **Tabla 1** corresponde a la prueba de inhibición potenciación y la **Tabla 2** se utiliza para verificar la dilución del producto a la cual se detecta inhibición/interferencia.
- 6.4.7 Un producto nuevo debe validarse a una dilución doble mayor que la primera dilución en la cual no existe interferencia evidente.
- 6.4.8 La validación debe realizarse en tres lotes diferentes de producto.

6.5 Interpretación de resultados

La prueba se considera válida cuando todas las determinaciones repetidas de las soluciones A y D no muestran ninguna reacción y el resultado de la solución C confirma la sensibilidad declarada del lisado de amebocito.

Si la sensibilidad del lisado determinada en presencia de la solución B no es menor de 0.5λ (0.125) y no es mayor de 2λ (0.5) la muestra de producto nuevo no contiene factores que interfieran en las condiciones experimentales aplicadas. En caso contrario el producto interfiere con la prueba.


La interferencia se puede resolver mediante un tratamiento adecuado como filtración, neutralización o calentamiento. Para establecer que el tratamiento elegido elimina eficazmente la interferencia sin pérdida de endotoxinas realizar la valoración descrita anteriormente.

7. REVISIÓN DE ESTE DOCUMENTO

El presente documento deberá revisarse el 15/06/2025 o antes de su vencimiento si fuere necesario.

8. BIBLIOGRAFÍA

Farmacopea de los Estados Unidos de América 2012 (USP 35). <85> Prueba de endotoxinas bacterianas.

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN VALIDACIÓN DE LA PRUEBA DE ENDOTOXINA BACTERIANA EN PRODUCTOS NUEVOS ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	Código: PEO-AC-098-08
		Versión: 08
		Vigencia: 15/06/2023 Vencimiento: 15/06/2025
		Página 4 de 5

9. ARCHIVO

El presente documento original será archivado en Gestión de Calidad bajo condiciones de seguridad adecuadas, además, se emiten 2 copias controladas para el área de Aseguramiento de Calidad siendo los responsables Asistente de Documentación y Jefe de Microbiología.

10. ANEXOS

CÓDIGO	NOMBRE
N/A	

Tabla No.1 Prueba de inhibición / potenciación

Solución	Concentración de endotoxina / solución a la que se agrega endotoxina	Diluyente	Factor de dilución	Concentración de endotoxina	Número de repeticiones			
					1	2	3	4
A ^a	Ninguna / Solución muestra	----	----	---				
B ^b	2λ / Solución muestra	Solución muestra	1	2λ				
			2	1λ				
			4	0.5λ				
			8	0.25λ				
C ^c	2λ / Agua LAL	Agua LAL	1	2λ				
			2	1λ				
			4	0.5λ				
			8	0.25λ				
D ^d	Ninguna / Agua LAL	----	----	----				

^a Solución A: Solución muestra de la preparación en análisis que esté exenta de endotoxinas detectables


^b Solución B: Prueba de interferencia

^c Solución C: Control para sensibilidad declarada del lisado

^d Solución D: Control negativo de agua

Tabla 2

Número de tubo		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dilución		0	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
Con adición de endotoxina (2λ)	1									
	2									
Sin adición de endotoxina	1									
	2									

	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN		Código: PEO-AC-098-08
	VALIDACIÓN DE LA PRUEBA DE ENDOTOXINA BACTERIANA EN PRODUCTOS NUEVOS		Versión: 08
	ASEGURAMIENTO DE CALIDAD		Vigencia: 15/06/2023
			Vencimiento: 15/06/2025
			Página 5 de 5

11. CONTROL DE REGISTROS

CODIGO Y NOMBRE DEL REGISTRO	RESPONSABLE DE SU ARCHIVO	MODO DE INDIZACION Y ARCHIVO	ACCESO AUTORIZADO	TIEMPO DE CONSERVACION
FO-AC-029 Control de temperatura y humedad de equipo de aseguramiento de calidad, Investigación y desarrollo y Microbiología.	Auxiliares de Microbiología	En leitz por fecha	Personal de laboratorio de Microbiología	3 años
FO-AC-120 Reporte de validación de la prueba de endotoxina bacteriana en productos nuevos.	Jefe de Microbiología	En leitz por fecha	Personal de laboratorio de Microbiología	3 años

12. CAMBIOS EN EL DOCUMENTO

Versión	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
1	El nombre del método de análisis cambió el nombre anterior era Método de análisis para validación de la prueba LAL en la determinación de endotoxina bacteriana en sustancias líquidas y sólidas. El contenido de este método de análisis fue reestructurado completamente para llevar a cabo la validación de la prueba según se indica en el DE.14 Associates of Cape Cod, Inc. 1994.
2	Se corrigieron errores en la redacción del inciso 6. Contenido
3	Esta versión cambia al nuevo formato y su contenido se adecúa a la nueva instalación del Laboratorio de Análisis Microbiológico, en la nueva planta de producción de Laboratorios Bonin.
4	Versión actualizada según la USP 35 (2012).
5	Se cambia el código y el formato del documento según lo indicado en el PEO-SGC-001-11 Elaboración, Aprobación, Revisión y Control de documentos, con ello cambia la numeración de la versión anterior. Se cambia la ubicación en el Laboratorio para realizar la prueba descrita en éste procedimiento (se traslada a la sala 700).
6	Cambio de versión y actualización de formato por vencimiento.
7	Se modifican los nombres de los reactivos en la sección de materiales, se omiten colores de etiqueta pues corresponden a un fabricante/ proveedor específico.