



SEP 20, 2023

External Quality Control for inter-Batch comparison

Ricardo M. Borges¹

¹UFRJ

LAABio-IPPN-UFRJ



Ricardo M. Borges

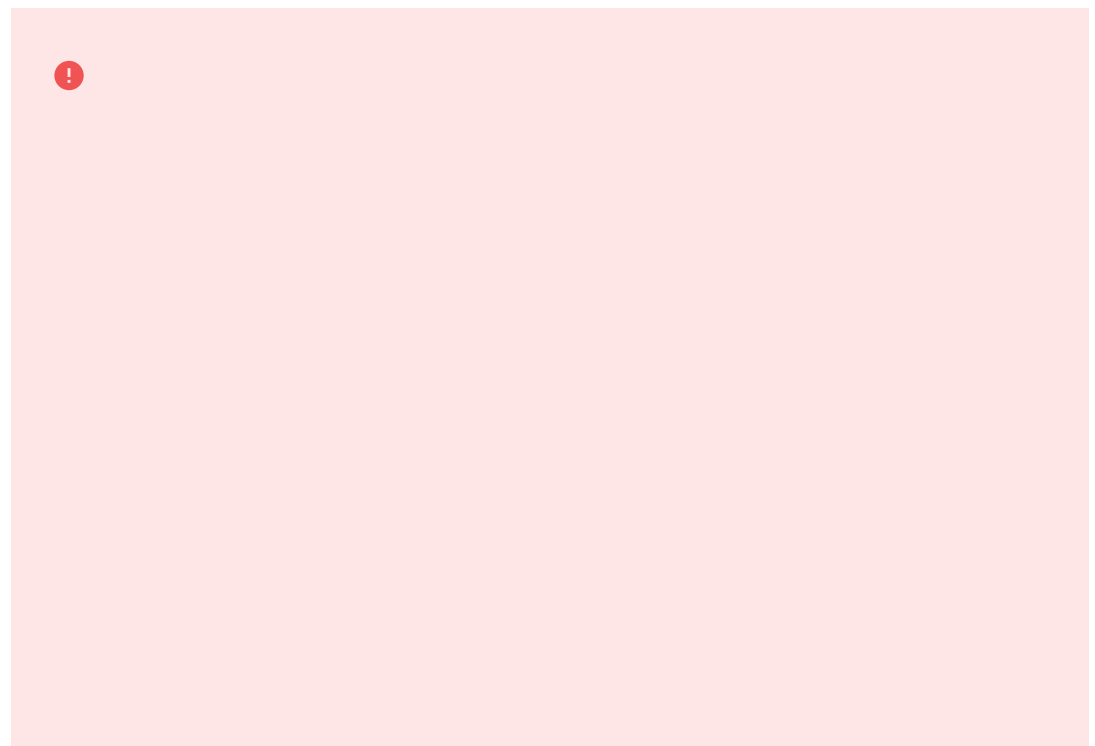
UFRJ

ABSTRACT

Controle de Qualidade Externo (CQExt): A amostra contendo a cepa código CCMR0280 cultivada em paralelo a todos os lotes servirá como referência para estudos comparativos estudo de comparação entre as cepas do CCMR (Culture Collection of Microorganisms at the Federal University of Rio de Janeiro). Após secagem da biomassa, a nova amostra da cepa código CCMR0280 obtida no cultivo corrente será combinada com o estoque de **CCMR0280-CQExt** para distribuição equitativa de Controle de Qualidade inter-lote.

Este documento se baseia no artigo: Long-Term Metabolomics Reference Material. G.J. Gouveia, A.O. Shaver, B.M. Garcia, A.M. Morse, E.C. Andersen, A.S. Edison*, and L.M. McIntyre*. Analytical Chemistry. 2021, 93, 26, 9193–9199. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c01294>

SAFETY WARNINGS



OPEN ACCESS



DOI:
dx.doi.org/10.17504/protocols.io.yxmvm391ol3p/v1

Protocol Citation: Ricardo M. Borges 2023. External Quality Control for inter-Batch comparison . **protocols.io** <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.yxmvm391ol3p/v1>

License: This is an open access protocol distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited

Protocol status: In development
We are still developing and optimizing this protocol

Created: Sep 18, 2023

Manuseio de produtos químicos e amostras biológicas: Certifique-se de estar familiarizado com os riscos associados aos produtos químicos utilizados, bem como às amostras biológicas, e siga as diretrizes de segurança apropriadas. Use equipamento de proteção pessoal, como luvas, avental e óculos de proteção.

Liofilização: A liofilização envolve o congelamento de amostras, o que pode criar riscos de exposição a temperaturas extremamente baixas. Certifique-se de utilizar equipamento de liofilização em conformidade com as normas de segurança e evite o contato direto com superfícies frias.

Armazenamento: Ao armazenar as amostras a -20°C, utilize um freezer dedicado para substâncias biológicas e químicas, garantindo a identificação clara de cada amostra. Certifique-se de que o freezer esteja em boas condições de funcionamento e de que as amostras estejam devidamente seladas.

Identificação de amostras: Rotule cuidadosamente todas as amostras com informações essenciais, incluindo número de lote e data de produção. Isso é fundamental para evitar confusões e garantir a rastreabilidade.

Descarte adequado: Certifique-se de seguir os procedimentos adequados de descarte de resíduos de acordo com as regulamentações locais e internacionais.

Treinamento: Garanta que todos os membros da equipe estejam adequadamente treinados nas técnicas e práticas de segurança específicas deste protocolo.

Procedimentos de emergência: Tenha planos de ação de emergência em vigor, incluindo o conhecimento sobre como lidar com derramamentos, incêndios ou outras situações adversas.

Avaliação de riscos: Realize avaliações de riscos específicas para este protocolo e desenvolva medidas de controle de riscos apropriadas.

Documentação: Mantenha registros detalhados de todas as etapas do protocolo, incluindo medidas de segurança adotadas, para referência futura e rastreabilidade.

Material

- 1
 - microtubos de 2 mL com tampa de rosca
 - tudo de centrifugação de 50 mL tipo Falcon
 - Balança analítica (AUW220 , Shimadzu)

Material em Estoque

- 2 Inicialmente, um lote inicial composto por 25 réplicas do cultivo da cepa código CCMR0280 foi (i) cultivado, (ii) coletado e combinado, (iii) submetido a liofilização e (iv) posteriormente triturado em pó
- 3 Esta amostra triturada está meticulosamente separada em 50, se possível, alíquotas de 50 mg em microtubos de 2 mL com tampa de rosca

Para cada lote a ser produzido

- 4
 - Em cada lote de cianobactérias cultivado para o estudo de comparação entre as cepas do CCMR, o cultivo da cepa código CCMR0280 será adicionado, mantendo o mesmo número de réplicas do estudo.
 - Esta amostra será utilizada para controle de qualidade intra-lote e também fará parte da composição da amostra CCMR0280-CQExt que, por sua vez, será utilizada para controle de qualidade inter-lotes.
- 5 A cada lote de cepas a serem cultivadas, após a conclusão da etapa de coleta e liofilização da biomassa, uma amostra de CCMR0280-CQExt será adicionada como amostra de controle de qualidade
 - O objetivo é minimizar a variância entre as amostras em todas as etapas de análises dos lotes, facilitando o processo de correção entre diferentes lotes.
- 6 Das amostras da cepa código CCMR0280 cultivadas a cada lote, após coleta da biomassa e liofilização, será retirada uma alíquota e combinada em um tudo de centrifugação de 50 mL tipo Falcon para a quantidade equivalente a pelo menos 100 mg
- 7 Essa amostra combinada será triturada e homogeneizada

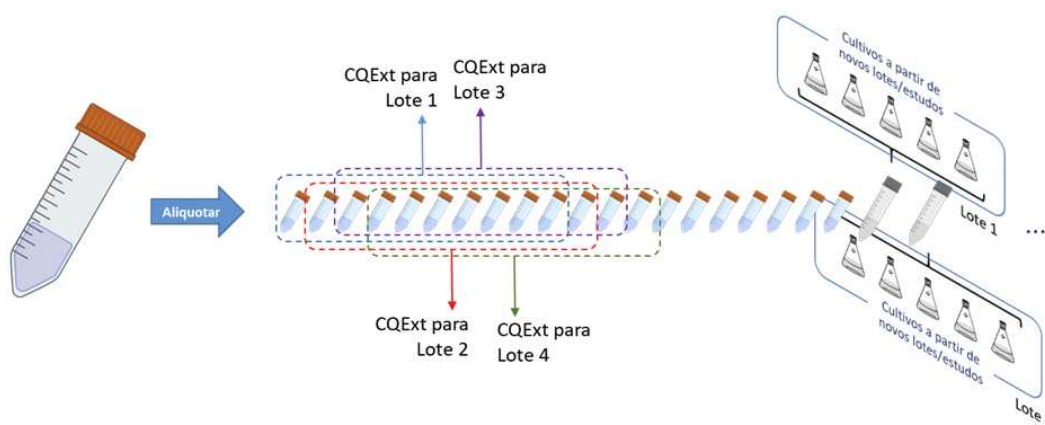
- 8 Uma alíquota de 50 mg desta amostra (da cepa código CCMR0280 cultivadas em cada lote) será adicionada à sequência de amostras **CCMR0280-CQExt**



- As amostras **CCMR0280-CQExt** serão armazenadas em freezer a -20°C em uma caixa devidamente identificada. Cada nova amostra deverá ser etiquetada com o número de lote e data de produção.
- Neste momento, teremos uma série de alíquotas de 50 mg de amostras **CCMR0280-CQExt**, incluindo aquelas que serão produzidas a cada novo lote de cultivo

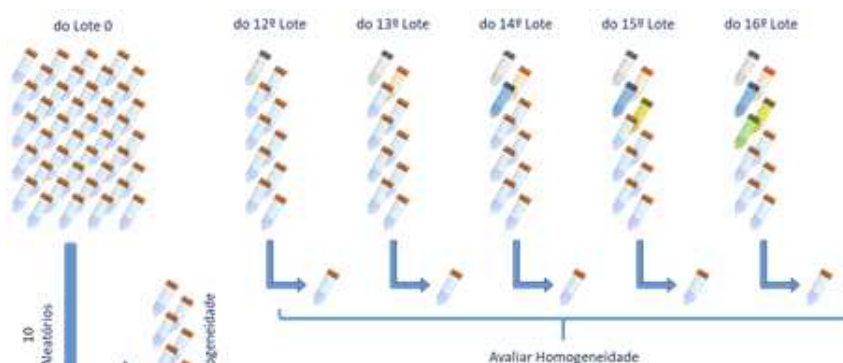
- 9 Quando chegar o momento de realizar a etapa de extração e preparo das amostras de cada lote, as 10 primeiras amostras **CCMR0280-CQExt** da série serão (i) reunidas, (ii) homogeneizadas e (iii) 5 alíquotas representativas de 50 mg serão adicionadas a sequência de extração

- Para o primeiro lote, as amostras de 1-10 serão utilizadas
- Para o segundo lote, as amostras de 2-11 serão utilizadas
- Para o terceiro lote, as amostras de 3-12 serão utilizadas
- Para o quarto lote, as amostras de 4-13 serão utilizadas, e assim por diante



Esquema representativo considerando 40 alíquotas iniciais de **CCMR0280-CQExt**, onde a amostra do primeiro lote do estudo será adicionada apenas no 12º lote

- 10 O protocolo de extração das biomassas deverá ser seguido rigorosamente com todas as amostras de cada lote, incluindo essas 5 amostras **CCMR0280-CQExt**
- 11 Todas os dados analíticos adquiridos a partir das amostras **CCMR0280-CQExt** serão avaliadas quanto a sua homogeneidade
- 10 das alíquotas produzidas inicialmente (step 3) serão separadas e submetidas a etapa de extração e preparo das amostras para aquisição dos dados analíticos
 - Estes dados analíticos serão utilizados para comprovação de homogeneidade



A vantagem está no fato de que a transição antes e depois do lote 11 ocorre de forma gradual e envolve variações pequenas, ao contrário de uma mudança brusca e distinta em forma de degrau. Essa transição gradual facilita um processo de correção muito mais simples e gerenciável em comparação com uma mudança abrupta em degrau.

Esquema representativo considerando 40 alíquotas iniciais de **CCMR0280-CQExt**, onde a amostra do primeiro lote do estudo será adicionada apenas no 12º lote