



LINEA GUIDA

Saggio
delle
Endotossine Batteriche
nelle preparazioni radiofarmaceutiche

Data di emissione: 26/10/2018
Rev. n.0

Pag. 1/9

INDICE

1.	GLOSSARIO	1
2.	INTRODUZIONE	2
3.	SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE	2
4.	RESPONSABILITA' E AZIONI	2
5.	ATTIVITA'	2
5.1	Descrizione dei Metodi riportati nelle Farmacopee	3
5.2	Condizioni generali per l'esecuzione del saggio	5
5.3	Convalide, qualifiche e determinazioni preliminari all'applicazione del saggio con prodotto radiofarmaceutico.....	5
5.4	Convalida del metodo analitico con il prodotto radiofarmaceutico	7
5.5	Preparazione del campione da esaminare ed esecuzione del test	9
6.	STRUMENTI DI REGISTRAZIONE	9
7.	BIBLIOGRAFIA	9

1. GLOSSARIO

Batteri GRAM-: batteri che non mantengono la colorazione dopo trattamento con il metodo di Gram, in contrapposizione ai batteri GRAM+ che sottoposti al trattamento di Gram rimangono colorati di blu o viola. La diversa colorazione è dovuta alla diversa composizione della parete cellulare.

Depirogenazione: processo di eliminazione delle sostanze pirogène che può essere ottenuto mediante rimozione (con cromatografia a scambio ionico o ultrafiltrazione o distillazione o osmosi inversa) o mediante inattivazione (con calore secco per almeno 30 min a 250°C).

LAL: lisato di amebociti di *Limulus Polyphemus*. Questi amebociti hanno la caratteristica di reagire con le endotossine e di determinare in vivo la coagulazione del sangue del limulus. Questa proprietà viene sfruttata nel test per la determinazione delle endotossine.

Limulus Polyphemus: antico aracnide membro della classe dei Merostomi che vive unicamente sulla costa atlantica degli USA.

Lipopolisaccaridi (LPS): componenti della membrana cellulare esterna dei batteri Gram- , costituiti da una porzione lipidica e una polisaccaridica, in grado di scatenare la risposta immunitaria negli animali.

Pirogeno: qualsiasi sostanza in grado di provocare un aumento della temperatura corporea (febbre). Si distinguono in endogeni, ossia presenti nell'organismo, ed esogeni, cioè introdotti dall'esterno. I più comuni pirogeni esogeni sono rappresentati dalle endotossine batteriche.

2. INTRODUZIONE

Le endotossine batteriche sono lipopolisaccaridi (LPS) componenti della parete cellulare dei batteri gram-negativi che possono causare febbre (pirogeni) quando iniettate nel circolo ematico. Vengono liberate costantemente nell'ambiente in cui sono presenti i batteri vivi e totalmente rilasciate in seguito a morte dei batteri stessi.

Sebbene ci sia un piccolo numero di pirogeni con struttura diversa dai LPS, si può ragionevolmente affermare che l'assenza di endotossine batteriche in un prodotto implichi l'assenza di componenti pirogenici.

Le endotossine batteriche resistono a temperature elevate (fino a 200-250°C), passano attraverso i filtri sterilizzanti comunemente utilizzati per le preparazioni farmaceutiche, sono idrosolubili e non volatili per cui risultano difficili, se non impossibili, da rimuovere da un preparato iniettabile.

Diventano perciò indispensabili la predisposizione di un processo produttivo idoneo a evitare l'introduzione di endotossine e la determinazione del contenuto di endotossine nelle preparazioni destinate alla somministrazione per via endovenosa, come chiaramente indicato nella Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana (FU) e nella European Pharmacopoeia (Ph Eur), in seguito denominate Farmacopee.

3. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Nella presente Linea Guida sono descritti in modo generale i saggi riportati nelle monografie specifiche in vigore e correntemente utilizzati per la rilevazione (saggio limite) o la determinazione quantitativa delle endotossine batteriche, nonché le raccomandazioni per la corretta esecuzione degli stessi. Sarà compito di ogni singola Struttura provvedere alla redazione di una procedura o istruzione operativa con specifici riferimenti pratici da applicarsi al proprio contesto lavorativo.

La presente Linea Guida si applica alle preparazioni radiofarmaceutiche.

Il saggio deve essere eseguito obbligatoriamente su ogni lotto di produzione nel caso di preparazioni estemporanee.

4. RESPONSABILITA' E AZIONI

Nell'ambito del Sistema di Qualità deve essere definito un organigramma funzionale e nominale nel quale siano chiaramente identificate le responsabilità in base alle funzioni.

Il responsabile dei controlli di qualità dei radiofarmaci, affiancato dalle altre figure responsabili della qualità, provvede a redigere una procedura o istruzione operativa dove si descrivono il metodo impiegato e tutte le fasi operative del saggio utilizzato per la determinazione della quantità di endotossina nelle preparazioni. E' responsabilità dell'operatore che esegue il saggio attenersi a quanto descritto.

5. ATTIVITA'

I saggi maggiormente utilizzati in MN per la determinazione della presenza di endotossine batteriche si basano sull'uso di un lisato di amebociti di limulo (*Limulus polyphemus*), un animale a sangue freddo con un unico tipo di cellule del sangue, gli amebociti, che si attivano quando l'animale subisce una ferita da cui entrano batteri. Gli amebociti arrivano in gran numero e producono una sostanza che forma un coagulo, imprigionando i batteri e chiudendo la ferita. In particolare si è visto che il lisato degli amebociti coagula in presenza di endotossine di batteri Gram negativi.

La reazione tra l'endotossina batterica e la proteina coagulabile del LAL è di tipo enzimatico. Le endotossine dei batteri Gram negativi catalizzano l'attivazione di un primo proenzima presente nel lisato degli amebociti del *Limulus*.

La fase iniziale dell'attivazione è determinata dalla concentrazione di endotossina presente. L'enzima attivato porta all'attivazione di un secondo enzima e così via, lungo una cascata enzimatica che ha come effetto finale la formazione di un coagulo gelatinoso.

La velocità della formazione del gel finale dipende principalmente dalla concentrazione di endotossina, dal pH e dalla temperatura, oltre alla presenza di eventuali fattori interferenti (riferirsi al punto 5.4).

5.1 Descrizione dei Metodi riportati nelle Farmacopee

Le Farmacopee riportano tre tecniche per questo saggio:

- la tecnica di gelificazione, basata sulla formazione di un gel;
- la tecnica turbidimetrica, basata sullo sviluppo di torbidità derivante dalla formazione di un gel;
- la tecnica cromogenica, basata sullo sviluppo di colore giallo dopo il "clivaggio" di un complesso sintetico peptide-cromoforo (pNA-paranitroanilina).

Da queste tre tecniche derivano 6 diversi metodi per il saggio:

- A. Metodo di gelificazione: saggio limite
- B. Metodo di gelificazione: saggio quantitativo
- C. Metodo cinetico turbidimetrico
- D. Metodo cinetico cromogeno
- E. Metodo cromogeno o al punto finale
- F. Metodo turbidimetrico al punto finale.

Il metodo A permette solo di stabilire se la concentrazione di endotossina nel campione è superiore o inferiore al limite stabilito. Il metodo quantitativo B permette di determinare in quale intervallo di concentrazioni cade il valore della endotossina presente nel campione. I metodi quantitativi C, D, E ed F rendono possibile la determinazione quantitativa della concentrazione di endotossina nel campione.

Le Farmacopee lasciano libera scelta tra questi sei metodi (EP 5.1.10); in caso però di dubbio o di disputa la decisione finale è presa sulla base del metodo di gelificazione - saggio limite così come indicato in EP 2.6.14

A - Metodo gel clot - Saggio limite

Il metodo consiste semplicemente nel far reagire il campione in esame con del lisato posto nella stessa provetta. La miscelazione delle soluzioni è un punto molto critico. È estremamente importante che la rotazione della provetta sia effettuata con un movimento progressivo, continuo e delicato, onde evitare la rottura del gel.

Le provette vanno incubate a 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) per 60 minuti ± 2 minuti, generalmente in un blocco termostatico. Il risultato viene letto girando delicatamente le provette di 180°C. In caso di formazione di un coagulo stabile il test è considerato positivo. Se non vi è coagulo (anche se il liquido si è leggermente addensato) il test è negativo.

In caso di reazione positiva si potrà affermare che il campione ha un titolo in endotossine maggiore o uguale alla sensibilità del lisato (λ) utilizzato, eventualmente modificato per il fattore di diluizione utilizzato. In caso contrario si potrà affermare solo che il campione ha un titolo inferiore alla sensibilità del lisato, sempre considerando l'eventuale fattore di diluizione.

Il range di accuratezza del gel clot corrisponde al 50%-200% del valore reale di endotossine presenti. Infatti nei controlli di sensibilità del lisato il range di accettazione è 0.5 - 2 λ .

Il test di routine viene eseguito utilizzando le seguenti 4 soluzioni, per ognuna delle quali sono effettuate due repliche:

- A: campione da analizzare opportunamente diluito, come stabilito in convalida, ad una diluizione minore o uguale alla MDV (Massima Diluizione Valida, vedi 5.3 Saggi preliminari).
- B: campione da analizzare come sopra con uno spike di endotossina pari a 2 λ : rappresenta il controllo positivo del prodotto.

C: acqua per LAL apirogena con uno spike di endotossina pari a 2 λ: rappresenta il controllo positivo.

D: acqua per LAL apirogena: rappresenta il controllo negativo.

Soluzione	Concentrazione di endotossina / Soluzione alla quale è stata aggiunta l'endotossina.	Numero di ripetizioni
A	Nessuna / Soluzione - diluizione prodotto in esame	2
B	2λ / Soluzione - diluizione prodotto in esame	2
C	2λ / Acqua LAL	2
D	Nessuna / Acqua LAL	2

Il test risulta valido se:

- in tutte le repliche della soluzione D si registra una risposta negativa di gelificazione.
- in tutte le repliche delle soluzioni B e C si registra una risposta positiva di gelificazione.

Il prodotto in esame supera il saggio quando in entrambe le repliche della soluzione A si registra una risposta negativa di gelificazione. Se si registra una risposta positiva per una replica della soluzione A e una risposta negativa per l'altra replica è possibile ripetere il test. Se entrambe le repliche della soluzione A sono positive è possibile ripetere il test ad una diluizione maggiore ma che non sia superiore alla MDV.

È utile ricordare che nel calcolare il risultato da riportare in un certificato analitico è sempre necessario considerare la sensibilità del lisato, ma anche il fattore di diluizione utilizzato. Così, per esempio, qualora per la preparazione della soluzione test fosse stata eseguita una diluizione 1:40, si utilizzasse un lisato con sensibilità 0.06 EU/ml e si ottenesse una risposta negativa di gelificazione in entrambe le repliche A, il risultato della concentrazione di endotossina nella soluzione originale in esame sarebbe espresso nel seguente modo:

Risultato: < sensibilità lisato x fattore diluizione = < 0.06 x 40 = < 2.4 EU/ml

B. Metodo gel clot - Saggio quantitativo

Il metodo gel clot quantitativo è una tecnica che permette di ottenere una determinazione del titolo di endotossine eventualmente presenti in un prodotto, ma senza fornire una misura precisa del valore.

Le modalità di esecuzione del saggio quantitativo del metodo gel clot sono ampiamente descritte nelle Farmacopee. Si rimanda a queste per maggiori dettagli.

C-F. Metodo turbidimetrico- Saggio cinetico e al punto finale (end-point).

D-E. Metodo cromogeno- Saggio cinetico e al punto finale (end-point).

Si tratta di metodi strumentali che permettono di definire la concentrazione di endotossina:

- nel metodo turbidimetrico il contenuto di endotossina di un campione viene determinato rilevando fotometricamente l'aumento di torbidità (lettura generalmente a 340 nm);
- nel metodo cromogeno si valuta fotometricamente lo sviluppo di colore (lettura generalmente a 405 nm) dovuto alla reazione tra l'endotossina presente nel campione e il lisato.

I metodi al punto finale misurano la torbidità o l'assorbanza della soluzione in esame al termine del periodo di incubazione. La quantificazione viene eseguita utilizzando una curva con concentrazioni note di endotossina.

Nei metodi cinetici viene misurato il tempo necessario (onset time) per raggiungere una determinata torbidità o assorbanza predeterminata: minore è il tempo, maggiore è la quantità di

endotossina presente. Anche qui la quantificazione viene eseguita confrontando i dati dei campioni (onset time) contro una retta di taratura generata sulla base dei dati delle concentrazioni note di endotossina.

Ovviamente ogni strumentazione presenta una funzionalità specifica per cui è necessario far riferimento alle istruzioni fornite dal produttore. Anche i reattivi possono prevedere modi differenti di preparazione del campione dipendentemente dal produttore.

È fondamentale, prima di fare il test di routine sui prodotti fare le verifiche preliminari descritte nel paragrafo 5.3 e la verifica della presenza di fattori interferenti (paragrafo 5.4).

5.2 Condizioni generali per l'esecuzione del saggio

Il test del LAL viene generalmente eseguito in spazi dedicati. In queste zone l'eccessivo passaggio di personale e le correnti d'aria devono essere limitati allo stretto necessario, al fine di ridurre le perturbazioni che possono influire sulla formazione del delicato gel.

Inoltre i piani di lavoro su cui si esegue il gel clot non dovrebbero essere soggetti a vibrazioni.

L'analista deve prestare attenzione a non introdurre inquinamenti accidentali esogeni durante lo svolgimento del test, evitando il contatto tra il materiale utilizzato (superfici esterne di pipette e puntali, superfici interne di provette e matracci, superficie interna del Parafilm e dei tappi di chiusura dei reattivi) e le superfici del piano di lavoro e delle mani. È inoltre importante evitare di passare con le mani e gli avambracci sopra le provette ed i vials aperti. È consigliabile operare in cappa, non necessariamente a flusso laminare, con opportuni DPI. In riferimento ai materiali utilizzati, così come indicato nella Farmacopea, tutta la vetreria deve essere in vetro borosilicato o vetro-soda, deve essere acquistata con certificato di apirogenicità o va sottoposta ad un processo di depirogenazione convalidato. Qualora si utilizzino accessori non in vetro è necessario, sempre come espressamente indicato dalle Farmacopee, che questi siano non solo apirogeni, ma anche esenti da fattori di interferenza. Il materiale plastico ritenuto più adatto per il LAL test è il polistirene.

Per il metodo gel clot è raccomandato l'uso di un blocco termostatico piuttosto che un bagno termostatico perché dotato di una distribuzione di calore più uniforme.

5.3 Convalide, qualifiche e determinazioni preliminari all'applicazione del saggio con prodotto radiofarmaceutico

Convalide dei reattivi e della risposta delle metodiche strumentali

Metodi di gelificazione A e B: richiedono la verifica della sensibilità λ del lisato ad ogni cambio di lotto di lisato o ad ogni cambiamento nelle condizioni sperimentali che possono influenzare la riuscita del saggio. Scopo del test è verificare che, nelle normali condizioni operative (considerando ambienti, strumentazione e accessori), il reagente utilizzato mantenga la sensibilità λ dichiarata dal fornitore (espressa in EU/ml o IU/ml). Per poter dichiarare valido il lisato, la sensibilità ottenuta nel test deve essere compresa nel range $0.5-2\lambda$ (per es: se $\lambda = 0.125$, la variazione accettabile deve essere compresa fra 0.06 e 0.25)

Metodi strumentali C,D,E,F: richiedono l'assicurazione dei criteri della curva standard di endotossina. La linearità della curva deve essere verificata ad ogni cambio di lotto di reagente o di endotossina standard. Per fare questo le Farmacopee richiedono di realizzare una curva standard di almeno 3 punti realizzando non meno di 3 repliche per punto. Affinché sia assicurata la linearità della curva è necessario che il coefficiente di correlazione r (in valore assoluto) sia inferiore o uguale a 0,980.

Qualifiche

Qualifica degli operatori che eseguono l'analisi: sebbene non citata espressamente dalle Farmacopee è opportuno eseguirla inizialmente e ripeterla a periodi determinati, mediante la

conferma della sensibilità del lisato o la dimostrazione della linearità della curva, a seconda del metodo in uso.

Qualifica degli strumenti: come per tutti gli strumenti di laboratorio, anche i lettori per LAL devono essere sottoposti a qualifica di installazione (IQ), di operatività (OQ) e di prestazione (PQ).

Altre determinazioni preliminari

Determinazione del limite endotossinico (LE) e della Massima Diluizione Validata (MDV):

Il Limite Endotossinico (LE) è specifico per ogni composto o prodotto considerato. Normalmente tale limite è definito nelle monografie specifiche di Farmacopea del prodotto stesso. Il limite endotossinico è espresso in Unità Internazionali (IU) o unità endotossiniche (EU) per unità di volume (mL), peso (mg) o attività. Dall'entrata in vigore delle monografie armonizzate delle Farmacopee, EU è considerata identica a IU.

In genere le preparazioni radiofarmaceutiche su base monografica, destinate alla somministrazione per uso iniettabile, presentano un LE di 175 UI/Vmax, dove Vmax è la massima dose in mL che può essere somministrata.

Nel caso in cui non esista una monografia il limite deve essere calcolato, come descritto nelle Farmacopee, con la formula seguente:

$$LE = \frac{K}{M}$$

Dove:

LE = Limite di endotossina

M = dose massima raccomandata di prodotto per kg di massa corporea somministrata nel periodo di un'ora.

K = dose soglia di endotossina per kg di massa corporea per ora.

I valori di **K** sono riportati nella seguente tabella:

Via di somministrazione	K
Endovenosa	5,0
Intratecale	0,2
Endovenosa per radiofarmaci	2,5

Quando il prodotto è iniettato ad intervalli frequenti o in infusione continuativa M è considerata la massima dose iniettata in una singola ora.

La MDV rappresenta la massima diluizione che si può effettuare su un materiale senza che il saggio perda la sua validità ai fini della verifica del limite in endotossina considerato.

La formula da utilizzare per determinare la MDV è la seguente:

$$\text{MDV} = \frac{\text{LE} \times [\text{concentrazione di Endotossina}]}{\lambda \times \text{concentrazione soluzione test}}$$

λ
 sensibilità del Lisato

La concentrazione della soluzione in esame nel caso delle preparazioni radiofarmaceutiche è 1 mL/mL

λ è la sensibilità del lisato dichiarata nella tecnica di gelificazione o il punto più basso usato nella curva di taratura nelle tecniche turbidimetriche o cromogene

Esempio pratico

Nel caso di una preparazione di un radiofarmaco con un volume finale di 10mL, utilizzando un test con λ dichiarata dal produttore di 0.05 UI/mL e considerando come V_{max} tutto il volume della preparazione, ossia 10mL, la MDV sarà:

$$MDV = (175 \text{ UI} / 10 \text{ mL} \times 1 \text{ mL} / \text{mL}) / 0.05 \text{ UI} / \text{mL} = 350$$

La massima diluizione che si può utilizzare per valutare il contenuto di endotossina nel campione considerato è di 1:350.

5.4 Convalida del metodo analitico con il prodotto radiofarmaceutico

Saggio per i fattori interferenti

Qualunque sia il metodo utilizzato, è necessario verificare l'assenza nel campione di fattori attivanti e/o inibenti tali da alterare la sensibilità del saggio. Questo risponde ad una precisa ed imprescindibile richiesta normativa presente nelle Farmacopee. L'interferenza non è un fenomeno raro e le principali cause sono: pH, viscosità, presenza di agenti chelanti (es EDTA ed eparina), proteine, elevate concentrazioni ioniche e glucani. E' necessario dunque essere in possesso delle informazioni complete e dettagliate sul principio attivo e sugli eccipienti costituenti il campione da analizzare.

Il test per i fattori interferenti nei metodi A e B consiste nel valutare la sensibilità del lisato all'endotossina in presenza e in assenza del campione da esaminare. Nella tabella sottostante vengono riportate le differenti soluzioni che è necessario preparare nel caso del metodo gel clot.

Soluzione	Concentrazione di endotossina/Soluzione alla quale è aggiunta l'endotossina	Diluente	Fattore Diluizione	Concentrazione iniziale endotossina	Numero di ripetizioni
A	Nessuna/Soluzione prodotto in esame				4
B	2 λ /Soluzione prodotto in esame	Soluzione di prodotto	1	2 λ	4
			2	λ	4
			4	0.5 λ	4
			8	0.25 λ	4
C	2 λ /Acqua LAL	Acqua LAL	1	2 λ	2
			2	λ	2
			4	0.5 λ	2
			8	0.25 λ	2
D	Nessuna/Acqua LAL				2

Il test è valido se le condizioni sotto riportate sono soddisfatte:

- in tutte le repliche delle soluzioni A e D si ha esito negativo
- il risultato della soluzione C e B conferma la sensibilità dichiarata del lisato (entro il range 2λ e $\lambda/2$)

Anche per quanto riguarda i metodi cinetici le Farmacopee prevedono una modalità precisa con cui eseguire il saggio per la verifica delle interferenze. Nella tabella seguente vengono riportate le soluzioni da preparare:

	Soluzione	Concentrazione endotossina	Numero di ripetizioni
A	Soluzione prodotto in esame	-	2
B	Soluzione prodotto in esame	punto intermedio della curva (spike)	2
C	Curva	almeno 3 punti	2
D	Acqua LAL	-	2

È necessario, pertanto, realizzare una curva con almeno 3 punti ognuno con due repliche. È bene impostare una curva i cui punti siano equidistanti e che non superino un fattore 10.

La sensibilità del metodo utilizzato (λ) è riferita al punto più basso della curva stessa.

Le altre soluzioni da preparare sono:

- controllo negativo: acqua per LAL impiegata nelle diluizioni di curva e prodotto in doppio
- campione in esame alla diluizione più opportuna in doppio
- campione in esame alla diluizione più opportuna a cui si è aggiunta una quantità di endotossina (spike) pari a un concentrazione che si colloca circa a metà della curva. Anche in questo caso il numero delle repliche è pari a due.

La convalida avrà esito positivo se:

- $r \geq |0,98|$.
- Il recupero dello spike nel prodotto si colloca nel range 50 - 200 % del valore teorico.
- Il controllo negativo risulta effettivamente negativo (ovvero con onset time superiore a quello dell'ultimo punto della curva).

Esempi pratici

Se si riscontra presenza di fattori interferenti, si ripete il test diluendo il campione con acqua sterile e apirogena fino a che si trova una diluizione con cui l'interferenza viene eliminata. E' necessario però mantenersi all'interno della Massima Diluizione Valida calcolata. Il test di routine dovrà poi essere eseguito sempre diluendo/trattando il prodotto alla medesima diluizione testata in questa prova. Eventuali modifiche di diluizioni dovranno essere sempre preventivamente verificate con il saggio dei fattori interferenti. Il calcolo della concentrazione di endotossina deve sempre tenere conto dell'eventuale diluizione utilizzata.

Saggio endotossine batteriche su materiale autologo del paziente marcato con radioattivo

Il campione di leucociti marcati potrebbe presentare problemi di interferenza dovuti alla viscosità e alla presenza di elevati contenuti proteici. E' quindi indicata la diluizione, che, come per tutti i radiofarmaci, deve essere sottoposta a convalida.

In alcuni casi la presenza di un'elevata quantità di fattori interferenti potrebbe rendere la diluizione alla MVD non sufficiente alla loro inibizione. In tal caso è possibile procedere alla denaturazione del campione, E' consigliato incubare per almeno 15min in un blocco termostatico a 70°C un'aliquota del radiofarmaco diluita 1:10 con acqua apirogena (è importante che la temperatura sia correttamente impostata e affinché il termoblocco raggiunga i 70°C ricordarsi di accendere lo strumento con adeguato anticipo). Al termine dell'incubazione è consigliabile diluire ulteriormente il campione con acqua apirogena. Anche il processo di denaturazione e ulteriore diluizione del campione deve essere sottoposto a convalida

5.5 Preparazione del campione da esaminare ed esecuzione del test

Fase preliminare:

Anche se non si riscontrano fattori interferenti, è raccomandato diluire sempre il prodotto da esaminare. La diluizione è effettuata con acqua sterile e apirogena. Se necessario è possibile aggiustare il pH della soluzione con un acido, una base o una soluzione buffer. Se viene eseguito un aggiustamento del valore del pH sarebbe opportuno dare evidenza che il pH della miscela lisato/prodotto sia all'interno di un range accettabile secondo le indicazioni del fornitore.

Esecuzione del test:

In questa sezione è opportuno redigere in maniera dettagliata tutte le operazioni pratiche eseguite, indicando luoghi di lavoro, tempistiche e manipolazioni secondo il metodo impiegato nel contesto lavorativo del reparto in cui si presta servizio.

6. STRUMENTI DI REGISTRAZIONE

I risultati dei test per la valutazione delle possibili interferenze e per la scelta della diluizione da utilizzare devono essere raccolti in un documento di validazione della procedura firmato dalle figure responsabili, nonché archiviato tra le convalide dei metodi impiegati per i controlli di qualità.

Il risultato del test sul campione, con la firma dell'operatore che l'ha eseguito e del responsabile del processo, deve essere conservato secondo le modalità stabilite dalla struttura.

Se la determinazione è eseguita con un test quantitativo, il risultato può essere espresso in UI/ml (o UE/mL). Tuttavia, in accordo con la FU, è sufficiente indicare se la concentrazione di endotossina nel prodotto eccede o no il limite stabilito.

7. BIBLIOGRAFIA

Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana, cap 5.1.10 – Linee guida per la realizzazione del saggio per le endotossine batteriche

Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana, cap 2.6.14 – Endotossine batteriche

Buone Pratiche di Fabbricazione. Linee guida AFI , Vol.VII , Ed. Tecniche Nuove, 2011

Manuali di istruzione del fabbricante del test.