

WERSJA 2: Tłumaczenie pełne

Tytuł: Mikrobiologiczna i chemiczna stabilność niekonserwowanych kropli do oczu z siarczanem atropiny 0,01% w/w – Badanie pilotażowe wpływu rodzaju dozownika i temperatury przechowywania na przestrzeni 12 tygodni codziennego stosowania po sporządzeniu leku

Abstrakt

Postępująca krótkowzroczność u dzieci to bardzo powszechna dolegliwość w społeczeństwach na całym świecie, często leczona za pomocą recepturowych kropli do oczu z siarczanem atropiny (AS*) w małej dawce, bez środków konserwujących, aby uniknąć podrażnień i uczuleń. Zaskakujący jest brak danych dotyczących stabilności dozowników chroniących przed zanieczyszczeniami (CFD*) w trakcie stosowania tego wielodawkowego leku, co budzi niepewność wśród lekarzy i pacjentów w Europie. Celem badania było porównanie wpływu różnych rodzajów dozowników na stabilność chemiczną i mikrobiologiczną niekonserwowanych kropli do oczu z AS* (0,01% w/w).

Symulację zakraplania przeprowadzono w celu oceny stabilności mikrobiologicznej po 4 tygodniach za pomocą posiewu oraz oddzielnie po 12 tygodniach poprzez bezpośrednią inokulację, analizę HPLC i pomiary pH. W przypadku pojemników CFD* nie stwierdzono zanieczyszczeń po 4, 8 ani 12 tygodniach użytkowania przy przechowywaniu w 23°C lub 4°C, w przeciwieństwie do grupy kontrolnej. Zawartość AS* utrzymała się w granicach $0,01 \pm 0,0002\%$ w/w po 12 tygodniach, przy wyższej stabilności chemicznej w 4°C pomimo spadku pH. Test obciążeniowy potwierdził niezawodność systemu CFD*. Podsumowując, stosowanie pojemników CFD* i przechowywanie w warunkach chłodniczych uznano za bezpieczne dla niekonserwowanych kropli do oczu z AS* przez 12 tygodni stosowania.

1. Wstęp

W opiece pediatrycznej rośnie zapotrzebowanie na specyficzne produkty farmaceutyczne do leczenia stanów ostrych i przewlekłych. Często jednak brak gotowych leków rynkowych, jak w przypadku kropli z siarczanem atropiny. AS* był od dziesięcioleci stosowany do celów diagnostycznych, a leczenie dużymi dawkami (0,5–1,0% w/w) jest dobrze udokumentowane i skuteczne w spowalnianiu postępu wady refrakcji. Wiąże się ono jednak z działaniami niepożądanymi (reakcje alergiczne, światłowstręt, pogorszenie widzenia z bliska i efekt z odbicia).

W ostatnich latach na zachodni rynek medyczny wprowadzono z Azji stosowanie kropli z AS* w małej dawce (0,01% w/w). Strategia ta przynosi pozytywne wyniki kliniczne przy mniejszym ryzyku skutków ubocznych. Ponieważ żadne oftalmologiczne produkty z AS* nie są zarejestrowane na szerszych rynkach, są one sporządzane w aptekach na co dzień z użyciem filtrów sterylnych. Istnieje niewiele danych na temat stabilności chemicznej i mikrobiologicznej tych kropli w warunkach codziennego stosowania.

Celem niniejszego badania było ustalenie stabilności chemicznej i mikrobiologicznej sporządzanych kropli z AS* (0,01%) w pojemnikach 10 mL w warunkach symulujących codzienne 12-tygodniowe stosowanie, porównując dozowniki niezanieczyszczające się (CFD*) z kontrolnymi butelkami ze szkła brązowego (BG) w temperaturze 23°C oraz 4°C.

2. Materiały i Metody

- **Materiały:** Użyto jednowodnego siarczanu atropiny, wody oczyszczonej do wstrzykiwań oraz sterylnej, apirogennej izotonicznej soli fizjologicznej. Wykorzystano standardowe pożywki mikrobiologiczne (agar CASO, agar LB, agar Sabouraud, bulion CASO-B). Dozowniki CFD* (Novelia) i sterylne butelki z brązowego szkła (BG) posłużyły jako pojemniki.
- **Produkcja kropli:** Przygotowano roztwór podstawowy AS* 1% w/w, który rozcieńczono do 0,01% w/w. Rozwiązanie filtrowano sterylnie w łożu laminarnej (LAF) do odpowiednich pojemników po 10 g roztworu.
- **Przechowywanie i symulacja:** Dozowniki przechowywano w $23 \pm 1^\circ\text{C}$ lub w $4 \pm 1^\circ\text{C}$ z dala od światła. Symulując codzienne użycie pacjenta, wyrzucano po dwie krople od poniedziałku do piątku.
- **Monitorowanie mikrobiologiczne:** Wykorzystano dwie metody: posiew agarowy przez pierwsze 4 tygodnie oraz inokulację bezpośrednią po 4, 8 i 12 tygodniach. Posiew inkubowano i badano pod kątem wzrostu bakterii i grzybów. Inokulacja bezpośrednia na podłożu CASO-B trwała 14 dni. Wykonano także Test Integralności Zamknięcia Końcówki (TSIT), brudząc celowo końcówki zawieszoną *E. coli* przez 3 dni.
- **Chemiczna stabilność, pH i Osmolalność:** Do analizy zawartości AS* użyto wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) po 4, 8 i 12 tygodniach. Pomiar pH przeprowadzono w tych samych odstępach czasu, a osmolalność zmierzono na początku.
- **Kryteria akceptowalności:** Za akceptowalną stabilność chemiczną przyjęto wartości AS* w przedziale 90–110% dawki początkowej. Wymagany był brak bakterii i grzybów.

3. Wyniki

- **Formuły i praktyczne użycie:** Dozowniki BG wyzwalaly znacznie mniejsze masy kropli przy zwykłym potrząsaniu, podczas gdy jednostki CFD* dawały wyższą i bardziej stałą objętość aplikowanej kropli.
- **Stabilność mikrobiologiczna (Posiew):** Przez pierwsze dwa tygodnie nie zaobserwowano żadnego zanieczyszczenia. W 3. tygodniu wykryto bakterie w pojemnikach BG przechowywanych w 23°C, a w 4. tygodniu zanieczyszczenia

wystąpiły też w BG trzymany w 4°C. Opakowania CFD* (Novelia) pozostały całkowicie wolne od zanieczyszczeń. Potwierdzono wytyczne Ph.Eur., według których zwykłe krople bez konserwantów należy wyrzucić po 24 godzinach od otwarcia.

- **Stabilność mikrobiologiczna (Inokulacja bezpośrednia):** W tygodniach 4, 8 i 12, próbki w opakowaniach CFD* w obu temperaturach nie wykazały oznak skażenia. Kontrastuje to z pojemnikami BG, które wykazywały skażenie we wszystkich punktach czasowych.
- **Test TSIT:** Pojemniki CFD* chroniły zawartość przed skażeniem *E. coli*, pozostając sterylnymi w przeciwieństwie do dozowników BG, które uległy zakażeniu.
- **Ocena zawartości leku (HPLC):** Zawartość AS* po 4, 8 i 12 tygodniach pozostała w pożądanym zakresie, a produkty degradacji nie były wykrywalne. Próbki z 12. tygodnia przechowywane w 4°C miały istotnie wyższą zawartość AS* niż te z 23°C. Stężenie pozostało w bezpiecznym zakresie 90-110%.
- **Osmolalność i pH:** Osmolalność wynosiła około 285 mOsm/kg. Początkowe pH wynosiło ok. 6, po czym we wszystkich pojemnikach zaobserwowano jego spadek w trakcie symulacji użycia. Spadek był mniejszy w CFD* (8-10%) i 4°C BG (6%), a najwyższy w BG z 23°C (14%). Mimo że spadek ten zmniejsza komfort pacjenta, obecne pH w granicach 5,4 było uznane klinicznie za akceptowalne i optymalne dla stabilności leku.

4. Dyskusja

Przedstawione dane stanowią badanie pilotażowe mające na celu ustalenie warunków bezpiecznego stosowania kropli ocznych w austriackich aptekach. W innej publikacji również wykazano stabilność i sterylność AS* po 6 miesiącach, jednak badano pojemniki nieotwarte. Nasze badania potwierdziły powolny spadek pH o ok. 10% po otwarciu, silniejszy niż u próbek zamkniętych z innych badań. Ze względu na ryzyko hydrolizy AS* w wyższym pH, kwaśniejsze środowisko chroni czynny składnik. Dodatkowe badanie na kroplach z bromowodorkiem homatropiny potwierdziło wyniki dla dozowników CFD*, lecz wskazało na jeszcze większy spadek pH. Otrzymany 12-tygodniowy okres ważności obowiązuje wyłącznie dla zaordynowanego trybu zakraplania objętego testami.

5. Wnioski

Niekonserwowane krople do oczu z AS* (0,01% w/w) sporządzane w leczeniu krótkowzroczności można produkować z zachowaniem zasad aseptyki przy użyciu wielodawkowych opakowań typu CFD*. Obserwowany 12-tygodniowy termin ważności (pod warunkiem prawidłowego użytkowania) bardzo ułatwia terapię długoterminową i

pozwała unikać strat plastiku ze stosowania preparatów jednodawkowych. Spadek pH w czasie można zneutralizować w przyszłości poprzez wprowadzenie właściwych układów buforujących.

Dodatek A. Krople z bromowodorkiem homatropiny 1% w/w

Aby potwierdzić wnioski główne, krople izotoniczne z bromowodorkiem homatropiny (HHBr) w stężeniu 1% sporządzono, przechowano i przetestowano w identyczny sposób (4, 8, 12 tygodni; pojemniki BG i CFD*).

Analizy mikrobiologiczne dla HHBr dowiodły, że pojemniki CFD* zabezpieczają przed zanieczyszczeniem tak samo dobrze jak w badaniu z AS*, w przeciwieństwie do szkieł BG. Chemiczna stabilność leku utrzymała się w granicach ok. 1% (98,8-101,0%) przez 12 tygodni bez względu na pojemnik i temperaturę.

Różnica wystąpiła we wskazaniach pH. Od początkowego pH = 6 odnotowano dramatyczny spadek po 12 tygodniach: aż o 27% w temperaturze 23°C i 18% w 4°C. Mimo pełnego bezpieczeństwa farmakologicznego i sterylności kropli z HHBr w pojemnikach CFD*, tak poważny spadek pH ujawnia konieczność stosowania chłodzenia leku oraz wdrożenia substancji buforujących, aby uniknąć drażnienia oka przez preparat.

* CFD - butelka jałowa zachowująca jałowość z systemem Pure Flow

* AS - siarczan atropiny