

**DISEÑO, PREPARACIÓN Y
ASEGURAMIENTO DE LA
CALIDAD DE
FORMULACIONES
FARMACÉUTICAS PARA USO
OFTÁLMICO NO
DISPONIBLES COMO
ESPECIALIDADES
MEDICINALES EN
ARGENTINA**

Tesis de Maestría en Ciencias Químicas

**Córdoba – Argentina
2020**

Farm. Silvina Mabel Vilarrubi

Tesis de Maestría en Ciencias Químicas

**DISEÑO, PREPARACIÓN Y
ASEGURAMIENTO DE LA
CALIDAD DE
FORMULACIONES
FARMACÉUTICAS PARA USO
OFTÁLMICO NO DISPONIBLES
COMO ESPECIALIDADES
MEDICINALES EN ARGENTINA**

Farm. Silvina Mabel Vilarrubi

- 2020-

Departamento de Ciencias Farmacéuticas

Facultad de Ciencias Químicas

Universidad Nacional de Córdoba



FCQ
Facultad de
Ciencias Químicas



Universidad
Nacional
de Córdoba



***Tesis presentada para acceder al grado de Magister en
Ciencias Químicas***

Director de tesis:

Dra. Daniela A. Quinteros

Comisión Evaluadora:

Dra. Cecilia Sobrero

Dra. María Cecilia Sánchez

Dra. Noelia L. González Vidal

(Evaluadora Externa)

DEDICATORIA

A Dios, por haberme dado la vida...

A mi mamá TITA, que me brindó el amor más puro y más noble que un hijo pueda recibir. Siempre me alentó a seguir estudiando y perfeccionándome, siendo el pilar fundamental de mis logros...

A mi papá OSCAR, por haber estado siempre allí... apuntalando mi vida, enseñándome a amar el trabajo... enseñándome que jamás hay que bajar los brazos.

A ambos le debo lo que soy...

Al amor de mi vida MARCOS, por estar siempre a mi lado, acompañándome en las buenas y en las malas... haciendo que la vida sea maravillosa.

A mis hijos NICOLÁS y MARTINA, el tesoro más preciado que me regalaron... ellos son el futuro. Hombre y mujer de bien que harán de este suelo un hermoso país.

A todos... ¡Mil gracias!

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis DANIELA, por su ayuda constante, por lo amplio de sus conocimientos, por su excelente trato y su siempre linda buena onda.

A la Farm. Sofía Martínez por su valiosa colaboración en los ensayos físicoquímicos.

A la Dra. Natalia Ángel Villegas por su ayuda en los ensayos microbiológicos.

Al Departamento de Ciencias Farmacéuticas, por permitirme realizar este trabajo.

Al Laboratorio de Hemoderivados por la realización del test de esterilidad.

A mi Comisión de Tesis, Dra. Cecilia Sobrero y Dra. Cecilia Sánchez por su buena predisposición en todo momento.

A la Dra. Noelia González Vidal por todos sus aportes.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 1 |
| SUMMARY..... | 4 |
| | |
| CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN, ANTECEDENTES Y OBJETIVOS..... | 8 |
| 1.- INTRODUCCION Y ANTECEDENTES | 8 |
| 1.1.- La formulación magistral de medicamentos..... | 8 |
| 1.2.- Farmacos antimicrobianos..... | 15 |
| 2.- OBJETIVOS..... | 22 |
| 2.1.-Objetivo general..... | 22 |
| 2.2.-Objetivos específicos..... | 22 |
| 3.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS CAPÍTULO I | 23 |
| | |
| CAPÍTULO II: LEGISLACIÓN-NORMATIVA, ANATOMÍA OCULAR Y MÉTODO DE PREPARACIÓN DE COLIRIOS ANTIBIÓTICOS REFORZADOS | 28 |
| 1.- INTRODUCCIÓN | 28 |
| 2.- LA VÍA OCULAR..... | 28 |
| 2.1.-Estudio de fórmulas oftálmicas..... | 28 |
| 3.- LEGISLACION Y NORMATIVA..... | 35 |
| 3.1.-Formulación magistral de productos | 35 |
| 3.2.-Formulación magistral de productos esteriles | 39 |
| 3.3.-Aspectos fundamentales para asegurar la esterilidad de la formulación..... | 46 |
| 3.4.-Determinación de riesgo en las preparaciones magistrales estériles (pme) | 50 |
| 3.5.-Método de preparación de preparados magistrales estériles antibióticos reforzados | 53 |
| 4.- CONCLUSIONES | 59 |
| ANEXO I..... | 61 |
| MATERIALES | 61 |

| | |
|---|-----|
| PLANILLA DE ELABORACIÓN | 73 |
| 5. - REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS CAPÍTULO II | 75 |
| | |
| CAPÍTULO III: CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE CAR..... | 78 |
| 1.-INTRODUCCIÓN..... | 78 |
| 2.- METODOLOGIA..... | 81 |
| 2.1.-Observación macroscópica..... | 82 |
| 2.2.-Medición de pH..... | 82 |
| 2.3.-Osmolaridad..... | 82 |
| 2.4.-Determinación de tamaño de partícula..... | 83 |
| 2.5.-Ensayos de identificación y concentración..... | 83 |
| 3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS ESTUDIOS FISICOQUIMICOS | 85 |
| 3.1.-Estudio de tamaño de partícula en CAR | 86 |
| 3.2.-Estudio del pH en CAR..... | 87 |
| 3.3.-Estudio de concentración de los colirios de Vancomicina, Amikacina y Vancomicina-Amikacina en la formulación magistral..... | 88 |
| 4.- DISCUSIÓN..... | 89 |
| 5.- CONCLUSIONES | 90 |
| 6.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CAPÍTULO III..... | 92 |
| | |
| CAPÍTULO IV: ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS Y DE ESTERILIDAD DE CAR | 96 |
| 1.- INTRODUCCION | 96 |
| 2.-METODOLOGÍA..... | 98 |
| 2.1.- Preparación de los medios de cultivo..... | 100 |
| 2.2.-Ensayo de promoción del crecimiento: Control positivo | 100 |
| 2.3.-Control negativo..... | 101 |
| 2.4.-Siembra en profundidad en placas de Petri | 102 |
| 2.5.-Validación de la técnica aséptica, test de esterilidad y ensayo de estabilidad | 102 |
| 3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 103 |
| 4.- CONCLUSIONES | 105 |
| ANEXO II | 106 |

| | |
|---|-----|
| Resultado del Test de Esterilidad muestras elaboradas en el Departamento de Farmacia. UNC | 106 |
| Resultado del Test de Esterilidad muestras elaboradas en el laboratorio de Farmacia Vilarrubi | 107 |
| 5.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CAPÍTULO IV | 108 |
| | |
| CAPÍTULO V: CONCLUSIONES GENERALES, PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES | 110 |
| 1.- CONCLUSIONES GENERALES..... | 110 |
| 2.- PERSPECTIVAS..... | 110 |
| 3.- RECOMENDACIONES | 111 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|-----|
| Tabla 1. Descripción de las características de los colirios antibióticos fortificados elaborados en el servicio de farmacia..... | 15 |
| Tabla 2. Concentración de partículas permitidas por m ³ de aire para las diferentes zonas y actividades | 43 |
| Tabla 3. ISO 14644-1: 2015. Límites de aceptación y modificaciones. | 44 |
| Tabla 4. Nivel de riesgo y requisitos de la preparación / conservación | 52 |
| Tabla 5. Colirios antibióticos reforzados según el nivel de riesgo | 53 |
| Tabla 6. Algunos agentes antioxidantes utilizados en preparaciones oftálmicas. | 80 |
| Tabla 7. Algunos agentes viscosizantes utilizados en preparaciones oftálmicas. | 80 |
| Tabla 8. Agentes conservantes de uso habitual en la formulación de medicamentos oftálmicos y rango de concentraciones empleadas. | 81 |
| Tabla 9. Resultados de los parámetros físico-químicos a tiempo 0. | 86 |
| Tabla 10. Comparación de los resultados de investigaciones realizados por diferentes grupos de trabajo sobre CAR..... | 90 |
| Tabla 11. Microorganismos para el ensayo de validación de bacteriostasis y fungistasis..... | 101 |

ABREVIATURAS

AEMPS: Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios

Amk: Amikacina

B: Buffer

BAK: Cloruro de benzalconio

BPF: Buenas Prácticas de Fabricación

CAR: Colirio antibiótico reforzado

c.s.p.: Cantidad suficiente para

DCI: Denominación Común Internacional

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

F: Fármaco

FA: Farmacopea Argentina

FDA: Food & Drug Administration

GMP: Good Manufacturing Practices. Buenas Prácticas de Fabricación

HEPA: High Efficiency Particles Air Filter

ISO: Organización Internacional de Normalización

NCF: Normas de Correcta Fabricación

PEDH: Polietileno Alta Densidad

PME: Preparaciones magistrales estériles

PSO: Productos Sanitarios Oficinales

USP: United States Pharmacopeia

Vnc: Vancomicina

RESUMEN

En la actualidad a pesar del gran desarrollo de la industria farmacéutica quedan campos terapéuticos apenas cubiertos por las especialidades medicinales disponibles, el caso de la oftalmología es uno de ellos. Las características fisiopatológicas del ojo hacen que las enfermedades de la superficie ocular sean, en general, de difícil tratamiento.

Sin embargo, los pacientes afectados necesitan un tratamiento eficaz y seguro para su enfermedad. Con el fin de cubrir este vacío terapéutico se ha incrementado el uso de fórmulas magistrales o de medicamentos obtenidos mediante la manipulación, reformulación o adaptación a la vía ocular, de formulaciones fabricadas para su administración por otras vías.

Para lograr que estos preparados magistrales sean seguros, eficaces y estables es imperioso contar con procedimientos de elaboración, por lo que el desarrollo e investigación de formulaciones brinda herramientas muy valiosas a los farmacéuticos galénicos que deben enfrentar estos desafíos.

En el presente trabajo se desarrollan colirios oftálmicos que no se encuentran disponibles como especialidades medicinales en Argentina.

Los colirios constituyen la principal forma farmacéutica destinada a la vía de administración oftálmica por su fácil instilación ocular y por ser también el tipo de formulación más económica para tratar enfermedades oculares, por estas razones se creyó oportuno ampliar los conocimientos en esta área.

Estos medicamentos deben cumplir con determinados requisitos y características, de manera que respeten la anatomía y fisiología del ojo como así también que aseguren la estabilidad del fármaco y esterilidad del producto final.

Los preparados magistrales oftálmicas seleccionados en este trabajo, son colirios antibióticos reforzados que se utilizan para el tratamiento tópico de afecciones comunes del ojo como son la úlcera corneal, la queratitis y algunos esquemas pre quirúrgicos. Para tratar este tipo de patologías se seleccionaron como ingredientes farmacéuticos activos Vancomicina y Amikacina y con ellos se desarrollaron formulaciones

magistrales simples o asociadas entre sí con una concentración mayor a la formulación comercial. La preparación de los mismos se llevó a cabo en condiciones asépticas.

El desarrollo de este manuscrito se basó en primera instancia en una revisión bibliográfica de la legislación vigente tanto a nivel nacional como en otros países sobre formulación magistral, también se investigó la anatomía y fisiología del ojo, absorción de principios activos oftálmicos, generalidades de los colirios, condiciones de fabricación, monografías de los componentes de las fórmulas de los colirios en estudio.

La parte experimental comprende la metodología en el desarrollo de la formulación y el procedimiento de elaboración de colirios.

Esta contempló ensayos fisicoquímicos y microbiológicos donde se demuestra la realización de preparados magistrales estériles, seguros y confiables en ausencia de conservantes manteniéndose estables por un período de 7 días.

Lo novedoso de este trabajo de investigación es que se procede la elaboración de los colirios, en dos condiciones de trabajo diferentes.

En una primera etapa se realizó la elaboración de las formulaciones en el departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

En una segunda instancia se realizó la preparación de los colirios en el laboratorio de Farmacia Vilarrubi, farmacia comunitaria, habilitada por la autoridad sanitaria y dedicada a la preparación de formulaciones magistrales no estériles.

Ambas muestras preparadas en diferentes lugares de fabricación fueron sometidas a los mismos ensayos fisicoquímicos y microbiológicos. De esta manera se evaluó la factibilidad de llevar a cabo preparaciones magistrales estériles no inyectables en un ámbito menos equipado y con lotes de producto terminado más reducidos, que los realizados a nivel industrial.

Los procedimientos de elaboración obtenidos durante la investigación proporcionan herramientas muy valiosas para permitir a futuro la elaboración de preparados magistrales estériles en una oficina de farmacia comunitaria o en una asistencial.

Sería también muy importante la presentación de los resultados del estudio a las autoridades de salud correspondientes para que sean atendidos en la legislación vigente. De esta manera el marco legal daría respaldo al farmacéutico elaborador.

SUMMARY

At present, despite the great development of the pharmaceutical industry, therapeutic fields remain barely covered by the medicinal specialties available, the case of ophthalmology is one of them. The pathophysiological characteristics of the eye make diseases of the ocular surface, in general, difficult to treat.

However, affected patients need an effective and safe treatment for their disease. In order to cover this therapeutic vacuum, the use of master formulas or medications obtained through manipulation, reformulation or adaptation to the ocular route, of formulations manufactured for administration by other routes, has increased.

To make these master preparations safe, effective and stable, it is imperative to have elaboration procedures, so the development and research of formulations provides valuable tools to Galenic pharmacists who must face these challenges.

In the present work ophthalmic eye drops are developed that are not available as medicinal specialties in Argentina.

Eyedrops constitute the main pharmaceutical form destined to the ophthalmic administration route because of its easy ocular instillation and because it is also the most economical type of formulation to treat eye diseases, for these reasons it was considered appropriate to expand knowledge in this area.

These medications must meet certain requirements and characteristics, so that they respect the anatomy and physiology of the eye as well as ensure the stability of the drug and sterility of the final product.

The ophthalmic master preparations selected in this work are reinforced antibiotic eye drops that are used for the topical treatment of common eye conditions such as corneal ulcer, keratitis and some pre-surgical schemes. To treat this type of pathologies, Vancomycin and Amikacin were selected as active pharmaceutical ingredients and with them simple or associated master formulations were developed with a concentration greater than the commercial formulation. The preparation thereof was carried out under aseptic conditions.

The development of this manuscript was based in the first instance on a bibliographic review of the legislation in force both nationally and in other countries on

master formulation, the anatomy and physiology of the eye, absorption of active ophthalmic principles, generalities of eye drops were also investigated , manufacturing conditions, monographs of the components of the eye drops formulas under study.

The experimental part includes the methodology in the development of the formulation and the process of making eye drops.

This contemplated physicochemical and microbiological tests demonstrating the performance of sterile, safe and reliable master preparations in the absence of preservatives remaining stable for a period of 7 days.

The novelty of this research work is that the elaboration of the eye drops is carried out, in two different working conditions.

In the first stage the formulations were elaborated in the Pharmaceutical Sciences Department of the Faculty of Chemical Sciences of the National University of Córdoba.

In a second instance, the eye drops were prepared in the laboratory of Farmacia Vilarrubi, a community pharmacy, authorized by the health authority and dedicated to the preparation of non-sterile master formulations.

Both samples prepared at different manufacturing sites were subjected to the same physicochemical and microbiological tests. In this way the feasibility of carrying out sterile non-injectable master preparations in a less equipped area and with smaller batches of finished product, than those carried out at industrial level, was evaluated.

The elaboration procedures obtained during the investigation provide very valuable tools to allow in the future the preparation of sterile master preparations in a community pharmacy office or in a healthcare one.

It would also be very important to present the results of the study to the corresponding health authorities so that they can be treated in current legislation. In this way, the legal framework would support the manufacturing pharmacist.

CAPÍTULO I

Introducción, antecedentes y objetivos

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN, ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

1.- INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

1.1.- LA FORMULACIÓN MAGISTRAL DE MEDICAMENTOS.

En el pasado, la formulación magistral era sinónimo de Farmacia. A lo largo de la historia y desde que se produce la separación de la medicina y la farmacia, el farmacéutico ha preparado el medicamento, según la prescripción de un médico, mediante una receta magistral, de manera individualizada para cada paciente, es lo que se ha conocido desde siempre como fórmula magistral. Según la Farmacopea Argentina (FA)7ª edición, para situarnos en definiciones que nos van a ayudar en el entendimiento de diferentes conceptos, podemos decir que un...

Medicamento: es una preparación o producto farmacéutico empleado para la prevención, diagnóstico y/o tratamiento de una enfermedad o estado patológico, o para modificar sistemas fisiológicos en beneficio de la persona a quien se le administra.¹

A su vez un...

Medicamento magistral o Formulación Magistral: es todo medicamento prescripto en una receta magistral para un paciente individualizado, posteriormente preparado, envasado y rotulado por un farmacéutico en el laboratorio de su farmacia y dispensado en la misma.¹

Para llevar a cabo este tipo de formulación magistral es necesaria una...

Receta magistral: la receta magistral debe indicar claramente la composición cuali-cuantitativa de los principios activos, utilizando los nombres establecidos en la Farmacopea Argentina o la Denominación Común Internacional (DCI) de la OMS. Sólo se aceptan sinonimias contempladas en la Farmacopea Argentina. Debe respetar las dosis habituales y máximas, indicadas en la Farmacopea o, en su ausencia en bibliografía internacional de referencia. Debe indicar la vía e indicaciones de administración, los datos completos del profesional prescriptor, los datos del paciente y la fecha de emisión.¹

Desde principios del siglo XX, la industria farmacéutica comienza a producir gran cantidad de fármacos en multitud de formas farmacéuticas y presentaciones,

disminuyendo paulatinamente la necesidad de la preparación de medicamentos en fórmulas magistrales.

Sin embargo, es a finales del siglo XX cuando la situación comienza a cambiar: la industria farmacéutica, por diversos motivos, no puede suministrar todos los medicamentos que los pacientes necesitan. Esta necesidad de medicación individualizada ha promovido un desarrollo importante de la formulación magistral. Una sociedad moderna no puede pasar por alto los colectivos de pacientes que no tienen un tratamiento adecuado a su patología. No se concibe en estos tiempos la existencia de tantos pacientes sin tratamiento farmacológico, discriminados por ser diferentes o porque los medicamentos que necesitan no son rentables.

La Formulación Magistral atiende a las necesidades terapéuticas de cada paciente, diseñando una solución exclusiva para el mismo en cada caso. Esto lo posiciona como un valioso instrumento terapéutico.

Desde un punto de vista estrictamente terapéutico, la Formulación Magistral aporta las siguientes ventajas:

- En primer lugar, permite personalizar el tratamiento, es decir, posibilita por un lado la adaptación precisa de las dosis requeridas y, por otro lado, el diseño individualizado del vehículo y forma farmacéutica que mejor se ajusten a las necesidades del paciente, también en casos de alergia o intolerancia a alguno de los excipientes de una determinada especialidad medicinal o cuando convenga la asociación de dos o más principios activos en un mismo medicamento. Además, no podemos olvidar el efecto positivo que la individualización del medicamento opera sobre la percepción que el paciente tiene de éste. Y ya nadie pone en duda la importancia que tiene la actitud del paciente para el éxito de “su tratamiento”.
- En segundo lugar, e íntimamente ligado a la personalización de la que hemos hablado, la Formulación Magistral facilita la aplicación de un tratamiento flexible, que por atender a cualquier modificación en la evolución del paciente, asegura una mayor eficacia terapéutica.
- En tercer lugar, la Formulación Magistral elabora un medicamento para un paciente ateniéndose a criterios exclusivamente científicos, sin atender a

intereses de carácter económico. El carácter científico de la Formulación Magistral es incuestionable.

- Por último, los tratamientos con formulación magistral necesitan la participación multidisciplinaria entre médico-farmacéutico-paciente, es una relación específica que responde fundamentalmente a la necesidad y derecho del paciente a una atención sanitaria particular, pues muchos de ellos son considerados «casos únicos» en su categoría, con evidente abandono farmacológico.² Figura 1

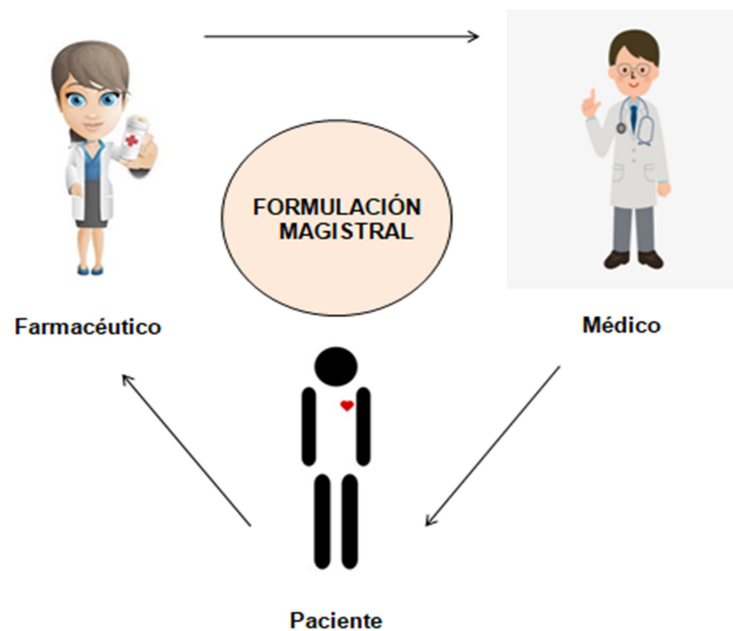


Figura 1: Medicamentos magistrales, trabajo multidisciplinario.

1.1.a.-FORMULACIONES O PREPARADOS MAGISTRALES ESTÉRILES (PME)

Cuando hablamos de *preparaciones magistrales estériles* (PME) las mismas requieren condiciones de trabajo que conduzcan a la obtención de medicamentos con garantía de esterilidad, la que puede definirse como la ausencia de todo microorganismo capaz de multiplicarse.

Existe una gran variedad de preparados magistrales estériles, que se pueden clasificar en:

- ✓ Inyectables: intravenosas, intramusculares, intradérmicas, intraoculares, etc.
- ✓ No inyectables: oftálmicos tópicos, óticas, intranasales, inhaladores, soluciones para irrigación.

El farmacéutico es responsable de la elaboración y dispensación de preparaciones estériles con la correcta composición, pureza, estabilidad y esterilidad, con un acondicionamiento correcto y una identificación precisa y apropiada para el paciente.³

Debido a las técnicas específicas para su elaboración y también para el control y garantía de la calidad estas preparaciones se desarrollan en menor volumen y existen pocos trabajos que traten el aspecto particular de la fabricación de medicamentos magistrales estériles a pequeña escala y su posterior control de calidad.

Para la elaboración de medicamentos estériles existen normas de fabricación tales como Good Manufacturing Practices (GMP) de la FDA, Normas de Correcta Fabricación (NCF) de la Comunidad Europea, Guía de Normas de Correcta Fabricación (NCF) de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario publicados por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), la Farmacopea Argentina 7º Ed., etc. Todos ellos se refieren a procesos industriales de fabricación y control, pero no detallan la operatoria en la preparación de fórmulas en el laboratorio de una farmacia comunitaria o en el servicio de una farmaciaasistencial.^{4, 5, 6}

Para la elaboración de PME en el ámbito de una farmacia comunitaria o en el servicio de una farmacia asistencial hemos considerado cuatros aspectos fundamentales para asegurar la esterilidad de la formulación:

1-Calidad de los componentes incorporados.

2-Procedimiento de preparación utilizado. Se trabaja en cabina de flujo laminar y con prácticas de manipulación asépticas.

3-Desempeño, habilidad, formación y actitud del personal implicado. El responsable de la formulación debe manejar técnicas adecuadas para el trabajo en cabinas de flujo laminar, manipulación de jeringas, viales y agujas. El lavado correcto de manos y la vestimenta adecuada. También la desinfección y limpieza de equipos y el correcto manejo de los componentes o ingredientes.

4-Condiciones ambientales en las que se realiza el procedimiento. Estos procesos se realizan en salas limpias, con filtros especiales y control de presión y temperatura.

En el presente trabajo se realiza una adaptación de la normativa vigente a nivel industrial para ser utilizada y que sirva además como referencia en la preparación de formulaciones magistrales estériles no inyectables.

1.1.b.- DESARROLLO DE PREPARACIONES MAGISTRALES ESTERILES - UNA NECESIDAD EN OFTALMOLOGÍA

El tratamiento farmacológico de las enfermedades oftálmicas entraña gran complejidad, que en muchas ocasiones no puede resolver la industria farmacéutica con sus preparados comerciales. En la actualidad la producción de medicamentos a escala industrial genera una alta cobertura de los requerimientos fármaco-terapéuticos de las poblaciones. Sin embargo, en los últimos tiempos estamos asistiendo a un avance imparable de la terapéutica personalizada con el empleo de medicamentos en fórmulas ajustados a las necesidades terapéuticas de cada paciente, necesidades no cubiertas por los medicamentos industriales.²

En el caso de las formulaciones oftálmicas es necesaria la preparación magistral individualizada para:

- Contar con medicamentos conteniendo principios activos no comercializados, o bien en concentraciones que no se disponen en las presentaciones comerciales
- Cuando es necesario administrar un fármaco por vías peri o intraoculares, para las que no existen presentaciones comerciales autorizadas
- Cuando se desea la eliminación de conservantes en los colirios y soluciones oftálmicas por sus demostrados efectos indeseables en tratamientos continuados, etc.

Esto conlleva a que el médico tenga que prescribir medicamentos que no se encuentran comercializados de manera industrial.²

Actualmente ninguna farmacia oficial de la provincia de Córdoba, República Argentina, puede ofrecer este servicio debido que no cuenta con un espacio aséptico para tal fin. Solamente en la ciudad de Buenos Aires existen muy pocas farmacias comunitarias, que poseen las condiciones edilicias para la preparación de medicamentos magistrales estériles. Esta problemática sucede también en los servicios de farmacia Hospitalaria, de 1319 hospitales públicos, sólo 7 cuentan con las condiciones de bioseguridad necesarias para la formulación de medicamentos.

En estos casos los pacientes necesitan que el farmacéutico prepare a pedido del especialista un medicamento individualizado que cumpla con todos los requisitos de calidad, así puede en forma rápida comenzar su tratamiento.

Que el farmacéutico se involucre activamente es una oportunidad de prestigiar su quehacer diario, aportando también seguridad al paciente y a la calidad del tratamiento.

En muchas ocasiones, en los servicios de oftalmología, son otros profesionales los encargados de realizar las preparaciones o informar al paciente. Esta situación se revierte cuando el farmacéutico dispone de procedimientos adecuados de elaboración y conocimiento de la legislación vigente, ya que este tipo de formulaciones requiere habilidades en el manejo de técnicas específicas, como así también la adecuación edilicia y de equipamiento que sean necesarios para cada situación.

Un gran ejemplo para englobar algunas de las necesidades actuales mencionadas anteriormente sería la preparación de **formulaciones magistrales de colirios antibióticos reforzados**, los cuales pueden ser la única estrategia efectiva cuando se produce el fracaso terapéutico de las distintas formulaciones de colirios antibióticos disponibles comercialmente.

Los **colirios antibióticos reforzados** son formulaciones que consisten en la reformulación de antibióticos parenterales en forma de colirios de composición o concentración no comercializadas.

Como fue mencionado, generalmente, son realizadas por personal no idóneo sin ningún tipo de instalaciones asépticas, lo cual no garantiza la esterilidad del producto, requisito excluyente para las formulaciones de administración oftálmica. Esta es la problemática existente en el área de oftalmología, como así también la insuficiente

cantidad de oficinas de farmacia y servicios farmacéuticos hospitalarios que preparen fórmulas magistrales estériles.

Planteado esto, creemos que es imperiosa la necesidad de proveer una respuesta a través del desarrollo de Servicios de Farmacia Galénica para la producción individualizada de formulaciones magistrales oftalmológicas.

1.1.c.-PREPARADOS MAGISTRALES ESTERILES –COLIRIOS ANTIBIOTICOS REFORZADOS.

Los PME colirios antibióticos reforzados se emplean principalmente en el tratamiento de las patologías infecciosas del segmento anterior del ojo: la conjuntiva (conjuntivitis), la córnea y esclera. En el caso de las infecciones intraoculares (endofalmitis) se utilizan, pero asociado a otras vías de administración. También, se aplican en la profilaxis de infecciones quirúrgicas y traumáticas.

Mediante esta vía se logran niveles más altos del medicamento en los tejidos oculares.⁷

Para incrementar más aún la concentración de antibiótico en el sitio de la infección, se indican instilaciones más frecuentes o colirios fortificados.

Los PME colirios antibióticos reforzados poseen una alta concentración del fármaco y no están disponibles comercialmente como medicamentos oftálmicos, fuentes bibliográficas evidencian que a partir de viales para uso parenteral en cabina de flujo se preparan medicamentos magistrales y se mantienen farmacológicamente estables y estériles durante 7 días.⁸

En la tabla 1 se describen algunos colirios antibióticos fortificados preparados en el servicio de farmacia.

Tabla 1. Descripción de las características de los colirios antibióticos fortificados elaborados en el servicio de farmacia.⁸

| Colirio | Presentación comercial de la que se parte | Excipientes propios de la presentación comercial | Diluyente | pH | Osmolalidad (mOsmol/kg) | pH (1:1) con DMEN-FBS) |
|---|--|--|-----------|-----|-------------------------|------------------------|
| Amikacina 33 mg/ml (56 mM) | Amikacina 500 mg/ml Normon EFG (generic). | Cloruro de sodio, hidróxido de sodio (ajustador de pH) y agua para inyección | BSS | 5.0 | 395 | 5.5 |
| Gentamicina 15 mg/ml (26 mM) | Gentamicina Braun 1 mg/ml solución para perfusión intravenosa. EFG | 9 mg/ml de cloruro sódico y agua para inyectables | SSF 0,9% | 4 | 244 | 5.5 |
| Cefazolina 50 mg/ml (104,6 mM) | Cefazolina Normon 1 g iv polvo y disolvente para solución inyectable EFG | Agua para inyección. | SSF 0,9% | 5.5 | 495 | 7 |
| Ceftazidima 50 mg/ml (78 mM) | Ceftazidima Normon 1 g polvo y disolvente para solución inyectable EFG . | Carbonato de sodio y Agua para inyección. | API+BSS | 6.5 | 352 | 7.5 |
| Vancomicina 50 mg/ml (33 mM) | Vancomicina Normon 500 mg EFG | No contiene. | BSS | 5.2 | 323 | 6 |
| Imipenem Cilastatina 5 mg/ml (15.75 mM) | Tienam iv 500/500 mg/ polvo para solución inyectable | Bicarbonato sódico. | SSF 0,9% | 6.7 | 290 | 7.5 |
| Colistina 10 mg/ml (5.71 mM) | Colistimetato sódico GES 1 mUI. | No contiene. | API | 8 | 55 | 7.9 |

*Las medidas de osmolalidad (mOsmol/kg) y pH de los colirios elaborados en el Servicio de Farmacia, se han determinado con un Vapor Pressure Osmometer (VAPRO 5520) and a pHmetro (WTW inoLab®).
Abreviaturas: BSS (Solución salina Balanceada Alcon®); SSF (Suero salino Fisiológico 0.9% Fresenius®)

Se ha demostrado que su uso alcanza altas concentraciones del fármaco en el humor acuoso, por lo que se logra una mayor efectividad y una rápida recuperación de la lesión, sin necesidad de emplear antibióticos sistémicos.⁹

En la mayoría de los pacientes afectados con infecciones oculares superficiales, el uso de antibióticos tópicos es bastante empírico, sobre todo en muchas formas de conjuntivitis bacterianas. Esto es debido, entre otros aspectos, al curso autolimitado de dichas infecciones y a las dificultades con la toma de muestra.¹⁰

1.2.- FARMACOS ANTIMICROBIANOS

A lo largo de la historia, los seres vivos han tenido que enfrentarse de forma continua contra los microorganismos causantes de infecciones. No obstante, el descubrimiento de la penicilina a finales de la década de 1930 marcó el inicio del desarrollo de fármacos antibacterianos y otros medios para el control de infecciones. Con el tiempo, el uso de los fármacos antimicrobianos dentro de la medicina se convirtió en uno de los hechos más influyentes a nivel mundial debido a la reducción de la tasa de morbilidad y mortalidad, tanto humana como animal.¹¹

Hoy en día, el empleo de antimicrobianos es fundamental en los tratamientos médicos, A nivel ocular las bacterias pueden causar infecciones en la superficie ocular, como conjuntivitis, queratitis, blefaritis, también infecciones más profundas, o infecciones intraoculares, tales como las uveítis o las endoftalmitis. Tanto preventivos como curativos, sin los antimicrobianos, las intervenciones quirúrgicas tales como trasplantes de órganos, cesáreas, colocación de prótesis, entre otros, se volverían procedimientos de alto riesgo; además de que se incrementarían los costos de los tratamientos por prolongar los tiempos de hospitalización y mayor requerimiento de atención médica.¹²

1.2.a.- INFECCIONES OCULARES EXTERNAS Y MICROORGANISMOS CAUSANTES

La mayoría de infecciones oculares son producidas por bacterias y con menor frecuencia por virus. Por el contrario, las infecciones por hongos son raras y en la mayoría de los casos debidos a gérmenes oportunistas.

Nos centraremos en las infecciones oculares externas, para las que están indicados los tratamientos tópicos en forma de colirios, como son las:

Conjuntivitis: es toda afección conjuntival originada tanto por microorganismos infecciosos como por causas inflamatorias.

Queratitis o ulcera corneal: es la invasión microbiana de la córnea que conduce, según su virulencia y patogenicidad, a la formación de un absceso estromal asociado a signos y síntomas inflamatorios. A diferencia de las conjuntivitis bacterianas, son de extrema gravedad conduciendo en ocasiones a la afectación de toda la córnea a incluso perforación y pérdida del ojo.¹³

Entre las bacterias que se asocian con infecciones oculares se encuentran los bacilos gramnegativos aerobios o anaerobios facultativos (*Pseudomonas, Escherichia, Klebsiella, Serratia, Proteus, etc.*), los bacilos gran negativos anaerobios (*Bacteroides, Fusobacterium*), los cocos y los cocobacilos gran negativos (*Neisseria, Moraxella, Acinetobacter*), los cocos gran positivos aerobios o los anaerobios facultativos (*Streptococcus, Staphylococcus*), los cocos grampositivos anaerobios

(*Peptostreptococcus*), los bacilos grampositivos (*Bacillus*, *Clostridium*) y los actinomicetos o microorganismos relacionados (*Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Actinomyces*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Streptomyces*).¹⁴

1.2.b.- RESISTENCIA MICROBIANA Y SU MANEJO TERAPEUTICO

La eficacia en la prevención y tratamiento de una serie de infecciones causadas por virus, bacterias, hongos y parásitos está siendo afectada por la creciente resistencia a los antimicrobianos. En 2015, debido al incremento acelerado de este tipo de resistencia, la Organización Mundial de la Salud (OMS) puso en marcha el Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (GLASS). Este sistema focaliza sus esfuerzos en la resistencia a los fármacos antibacterianos por su gran emergencia y, actualmente, es considerado como de máxima prioridad para la organización. Tal es su relevancia que se actualiza de forma periódica la lista de los antibacterianos de importancia crítica para la medicina humana y, en el 2017, se emitió una lista mundial de patógenos prioritarios resistentes a antibacterianos con el fin de priorizar las investigaciones y el desarrollo de nuevos tratamientos con este tipo de fármacos.¹⁵

La prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) y de *Staphylococcus epidermidis* resistente a la meticilina (SERM) en la conjuntivitis varía según distintos estudios. Uno de ellos ha indicado un incremento en la presencia de SARM en la conjuntivitis bacteriana que va de 4.4% en la década del 90 a 42.9% en 2003. Asimismo, se han informado altas tasas de resistencia a diversos antibióticos para este microorganismo, entre los que se incluyen las fluoroquinolonas. Para estos casos es muy útil el tratamiento con Vancomicina.¹⁴

En cuanto a *Staphylococcus coagulasa* negativo, es causa frecuente de infecciones graves, como queratitis y endoftalmitis, y se ha informado resistencia a la gatifloxacina en un 11% de las infecciones superficiales y en un 56% de las endoftalmitis. Tanto SARM como SERM han demostrado resistencia a las fluoroquinolonas de cuarta generación, como gatifloxacina o moxifloxacina.¹⁴

También se ha comunicado una resistencia del 3.4% para gatifloxacina, del 5.1% para ciprofloxacina y del 8.5% para gentamicina en la infecciones oculares por

enterobacterias. Aunque la resistencia de *Proteus spp* continúa siendo motivo de preocupación en las infecciones sistémicas, los cultivos oculares de esta especie aún son susceptibles a los aminoglucósidos y a la ceftazidima.¹⁴

Siempre que sea posible debe ser usado un antibiótico de estrecho espectro, ya que los agentes de amplio espectro exponen innecesariamente a organismos no patógenos a un estrés que inevitablemente resulta en el desarrollo de resistencia.

El uso de combinaciones de antibióticos es una práctica común en el tratamiento de infecciones oculares graves como úlceras microbianas y endoftalmitis. Además de proporcionar cobertura de amplio espectro (combinación de dos antimicrobianos que complementan su espectro), la terapia combinada reduce la aparición de cepas resistentes.¹⁶

Dentro de las reformulaciones que con más frecuencia se solicitan en el ámbito hospitalario y en la farmacia comunitaria son los **colirios reforzados de antibióticos**, siendo ya un estándar la combinación de Vancomicina con Amikacina; Vancomicina con Ceftazidima; Cefazolina-Tobramicina.¹⁶

La combinación de un tratamiento con un agente activo contra bacterias Grampositivas (por ejemplo: Vancomicina) y otro contra bacterias Gramnegativas (por ejemplo: Amikacina) proporciona una cobertura antibacteriana adecuada. En un principio deberían administrarse estos antibióticos cada 30/60 minutos respectivamente; pero la administración frecuente de varios colirios es poco práctica para los pacientes y suele no cumplirse con el tratamiento, o se convierte en una tarea sumamente difícil para las enfermeras.

Se comparó la eficacia clínica y la seguridad de la solución Vnc-Amk (en la misma solución) y el tratamiento con ambas soluciones por separado en casos de queratitis bacteriana. Los resultados del estudio mostraron que la solución Vnc-Amk fue tan efectiva y segura como los colirios de Vnc y Amk por separado en el tratamiento de la úlcera corneal bacteriana. Con un tratamiento intensivo de solución Vnc-Amk no se observaron complicaciones graves como perforación, enucleación o evisceración en ningún caso, toda infiltración ulcerosa retrocedió, sin progresión y se completó la reepitelización. Asimismo, se redujo considerablemente el uso de personal de enfermería.¹⁷

Datos obtenidos de diversos estudios dan fundamento a la idea de que los antibióticos deben ser administrados a la más alta dosis, acorde con un aceptable perfil de seguridad del producto. La oportunidad de desarrollar resistencia es inferior si el antibiótico es usado a una alta dosis durante la fase más incipiente del tratamiento y durante un periodo corto de tratamiento.

Para el presente trabajo, dentro de los fármacos antimicrobianos se seleccionaron Amikacina Sulfato y Vancomicina Clorhidrato, solos o asociados, los cuales se describen en las siguientes secciones.

1.2.c.- MONOGRAFÍAS DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS Y SU APLICACIÓN EN OFTALMOLOGÍA

Vancomicina Clorhidrato

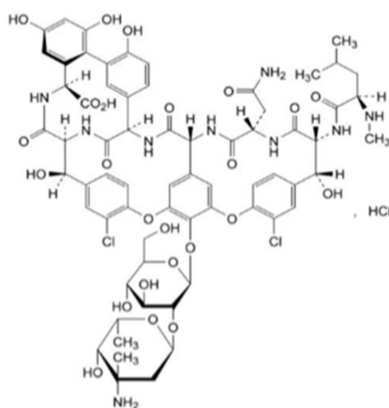


Figura 2. Estructura molecular de Vancomicina Clorhidrato.

- Formula Molecular: $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24} HCl$
- Peso Molecular: 1485,73
- pKa (ácido fuerte): 2,99 pKa (base fuerte): 9,93 (DrugBank)
- Datos Físico-Químicos: polvo blanco o casi blanco, higroscópico. Fácilmente soluble en agua, poco soluble en etanol al 96%. Las soluciones de vancomicina clorhidrato al 5% en agua tienen un pH ácido (2,5-4,5). La solubilidad acuosa depende

del pH; es muy soluble a pH 4, y disminuye su solubilidad a medida que el pH aumenta, alcanzando un mínimo a pH 7, en cuyo punto la carga molecular es cero.¹⁸

- Mecanismo de acción: ejerce su acción inhibiendo la formación de los polímeros de peptidoglicano de la pared bacteriana.

Propiedades y usos: es una sustancia glucopeptídica antimicrobiana o mezcla de glucopéptidos producidos por el crecimiento de ciertas cepas de *Amycolatopsis orientalis* (*Nocardia orientalis*, *Streptomyces orientalis*) o por cualquier otro medio. Se ha descrito que *Staphylococcus*, sobre todo *S. aureus* y *S. epidermidis* (incluidas las cepas resistentes a la meticilina), *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* y algunas cepas de estreptococos del grupo B son sensibles a la Vancomicina. *Streptococcus viridans* y los enterococos, como *Enterococcus faecalis*, son a menudo “tolerantes”, es decir, puede obtenerse su inhibición, pero sin ningún efecto bactericida a concentraciones plasmáticas habituales. *Clostridium difficile* es habitualmente muy sensible, pero otros clostridios varían algo en cuanto a la sensibilidad. *Actinomyces spp*, *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium spp*, algunos lactobacilos y *Listeria* son habitualmente sensibles. Virtualmente, todos los microorganismos gramnegativos, así como las micobacterias y los hongos, son intrínsecamente resistentes.¹⁸

La Vancomicina por vía tópica oftálmica se emplea para tratar infecciones localizadas en el ojo, como es el caso de queratitis y endoftalmitis bacterianas, de forma empírica o provocadas por bacterias sensibles a este antibiótico. El rango de concentraciones utilizado en bibliografía es muy amplio (desde 5 mg hasta 250 mg/ml) aunque las más utilizadas son 31 mg/ml (que corresponde a la concentración bactericida frente a *Staphylococcus aureus*) y 50 mg/ml.¹⁹

- Posología: la posología varía en función de la gravedad de la infección. La posología habitual durante los primeros días de tratamiento es de 1 gota cada hora.²⁰

Su importancia en terapéutica antiinfecciosa oftálmica se ha incrementado en los últimos años debido al aumento de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a penicilinas y cefalosporinas. Además, en la actualidad existe mayor incidencia de infecciones estafilocócicas, tanto por gérmenes coagulasa-positivos (*S.aureus*) como por

estafilococos coagulasa-negativos (*Staphylococcus epidermidis*, *S. Saprophyticus*, *S. Hominis*, etc.), poco sensibles a otros grupos de antibióticos.^{21, 22, 23}

- Efectos adversos y precauciones: es una sustancia moderadamente irritante para el ojo y en las primeras horas de contacto produce toxicidad en los queratocitos estromales.^{8, 24} Evitar la administración conjunta con colirios de cefalosporinas debido a reportes de incompatibilidad.²⁵

Amikacina Sulfato

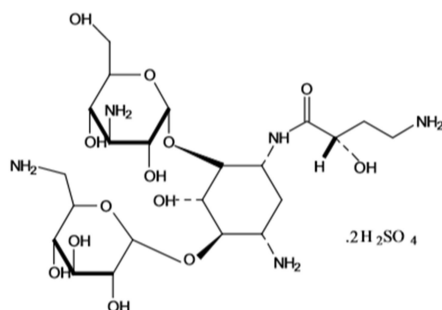


Figura 3. Estructura molecular de Amikacina Sulfato

- Fórmula molecular: C₂₂H₄₃N₅O₁₃·2H₂SO₄
- Peso Molecular: 781,8
- pKa (ácido fuerte): 12,1 pKa (base fuerte): 9,79
- Datos Físico-Químicos: polvo blanco o casi blanco. Muy soluble en agua; prácticamente insoluble en acetona y alcohol. (FA 7^oed)
- Propiedades y usos: la Amikacina es un antibiótico aminoglucósido, derivado semisintético preparado a partir de la kanamicina A. Su actividad antibacteriana se orienta fundamentalmente contra bacilos gramnegativos aerobios, es activo contra casi todas las cepas de *Klebsiella*, *Enterobacter*, *E. coli* y *Pseudomonas*.²⁶

Mecanismo de acción: actúa en el interior de la célula, se liga de manera irreversible a la subunidad ribosómica 30S, por lo que se incorporan secuencias erróneas de aminoácidos en la cadena de péptidos. La producción de proteínas anormales es mortal para los microorganismos.²⁶

La Amikacina para uso oftálmico está indicada en infecciones bacterianas oculares superficiales como úlceras corneales, queratitis, conjuntivitis, dacriocistitis y blefaritis.⁷

Posología: se utiliza 1 gota/ 3-4 horas. En casos graves hasta 1 gota/hora.⁷

- Efectos adversos y precauciones: por vía tópica presenta toxicidad en el epitelio corneal. También puede producir lagrimeo, quemazón, fotofobia, edema palpebral, y eritema conjuntival. No usar en embarazo.^{7,8}

2.- OBJETIVOS

2.1.- OBJETIVO GENERAL.

El objetivo general de este trabajo de tesis fue aportar elementos científico-técnicos al ámbito de la farmacia galénica, ya sea ésta una farmacia oficial o una asistencial.

A través del desarrollo y validación integral de equipamiento, instalaciones y protocolos de elaboración de medicamentos magistrales, tendiente a obtener medicamentos optimizados (seguros, eficaces y económicos) para administración oftálmica, que cumplan con parámetros de eficacia, seguridad y estabilidad para garantizar su calidad.

2.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Proponer una metodología de trabajo adecuada para la preparación de fórmulas magistrales obligatoriamente estériles
- Evaluar el desempeño en distintas condiciones de trabajo
- Desarrollar protocolos de trabajo acorde a estas condiciones
- Garantizar todos los requisitos de calidad similares a una formulación de producción industrial.
- Transferir y aplicar los resultados de las propuestas anteriores y así optimizar una formulación magistral en una oficina de farmacia.

3.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS CAPÍTULO I

1. Ministerio de Salud de la Nación. Farmacopea Argentina. Séptima edición. Volumen I. Buenas prácticas de preparación de medicamentos magistrales.2003: 2310.
2. Corral Aragón A. La formulación magistral en oftalmología: una necesidad terapéutica. Arch soc esp oftalmol. 2006; vol 81: 631-32.
3. Ministerio de sanidad, servicios sociales e igualdad de España. Guía de buenas prácticas de preparación de medicamentos en servicios de farmacia hospitalaria. Junio 2014.
4. AEMPS. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos de uso Humano y Veterinario. Anexo I. 2003.
5. Ministerio de salud de la Nación. Farmacopea Argentina. Séptima edición. Volumen I. Buenas prácticas de fabricación y control. 2003: 359-404.
6. World Health Organization. WHO Technical Report Series, no. 961. Good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products, Annex 6 2011.
7. Barberá Loustaunau E, Vázquez Castro F. Tratamientos tópicos oculares: revisión. Rev Terapéutica 2009; vol. 33, no. 3:80-81. <http://www.msc.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/infMedic/docs/vol33_3TratTopOculares.pdf> [consulta: 28 de octubre 2018].
8. Fernández Ferreiro A, González Barcia M, Gil Martínez M, et al. Evaluation of the in vitro ocular toxicity of the fortified antibiotic eye drops prepared at the Hospital Pharmacy Departments. Farm Hosp. 2016; vol. 40, no. 5:352-70. Citado en Pub Med; PMID: 27570987.
9. Guzmán Perdígón Y, Romeu Yunaka SE, Pérez Morales Y, García Álvarez LM. Uso de colirios antibióticos fortificados en úlceras corneales. MEDICIEGO. 2012 [citado 20 de abril de 2015]; 18(Sup.). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol_18noespc_2012/pdf/T29.pdf
10. Vera Vidal V, Suarez Olivares A T, Ruiz Miranda M, Pascual Vera H. Antibioticoterapia en oftalmología. MEDISAN [Internet]. 2011 Nov [citado 2019 Feb 19]; vol. 15, no.11: 1598-1608. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192011001100011&lng=es.

11. CLSI, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically ; Approved Standard. 9ª edición. 2012; vol. 32, no. 2.
12. Banin E, Hughes D, Kuipers O P, “Editorial: Bacterial pathogens, antibiotics and antibiotic resistance,” FEMS Microbiol. Rev. 2017; vol. 41, no. 3: 450–452, OMS, “Global Priority List Of Antibiotic-Resistant Bacteria To Guide Research, Discovery, And Development Of New Antibiotics,” 2017.OMS, “Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo,” 2018. [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistancefound/es/>. [Accessed: 13-Jun-2018].
13. González Sotero J, Rojas Álvarez E, Correa Rojas O, Iviricu Tielves R. Resistencia antimicrobiana en oftalmología. Revista Mexicana de Oftalmología 2011; vol. 85, no. 3: 148-155.
14. Sharma S. Antibiotic Resistance in Ocular Bacterial Pathogens. Indian Journal of Medical Microbiology 2011; vol 29 no 3: 218-222
15. Proyecto de plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos, 2015 (http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA68/A68_20-en.pdf?ua=1).
16. Alonso Herreros JM, Nájera MD, Vila N, Robles IS, Fernández V, San Miguel MT. Seguimiento durante un año de la reformulación de especialidades farmacéuticas en un hospital de referencia. Farm Hosp. 1996; vol. 20, no. 1: 41-47.
17. Chiang C C, Lin J M, Chen W L, Chiu Y T, Tsai Y Y. Comparación de la eficacia del tratamiento de la úlcera corneal con solución compuesta de vancomicina fortificada-amikacina y tratamiento convencional de ambos antibióticos tópicos por separado. Eye. Londres 2009; vol. 23, no 2: 294–8.
18. Revilla Cuesta N. Analisis farmacocinético-farmacodinámico de vancomicina en pacientes de UCI. Tesis doctoral. 2009.
19. Alonso Herreros J M. Preparación de medicamentos y formulación magistral para oftalmología. Madrid: Diaz de Santos. 2003; 124-5.
20. Fuentes Irigoyen R, Martín de Rosales Cabrera A M, Riestra A, Vila M, Dávila Pousa C, Alonso Herreros J M. Consenso SEO-SEFH sobre recomendaciones de utilización y elaboración de preparaciones oftálmicas. Farmacia Hospitalaria. 2018; .vol. 42, no. 2: 82-88.

21. Pigrau C. Oxazolidinonas y glucopéptidos antibiotics. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; vol. 21:157–64.
22. Pigrau C, Almirante B. Oxazolidinonas, glucopéptidos y lipopéptidos cíclicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009; vol. 27, no. 4:236-46. <http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13136682&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=28&ty=120&accion=L&origen=elsevier&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=28v27n04a13136682pdf001.pdf> [consulta: Febrero 2019].
23. Ruiz Alves M, Amaral de Andrade B B. Úlcera de córnea bacteriana. Sociedade brasileira de córnea e lentes de contato (soblec). *Arq. bras. oftalmol.* 2000; vol. 63, no.6: 495-498.
24. Fernández Ferreiro A, González Barcia M, Gil Martínez M, Santiago Varela M, Pardo M, Blanco Méndez J et al. Evaluación de la toxicidad ocular in vitro de los colirios fortificados antibióticos elaborados en los Servicios de Farmacia Hospitalaria. *Farm Hosp.* [Internet]. 2016 Oct [citado 2019 Ene 30]; vol. 40, no. 5: 352-370. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-63432016000500003&lng=es. <http://dx.doi.org/10.7399/fh.2016.40.5.10416>.
25. Osborn E, Baum JL, Ernest C, Koch P. The stability of ten antibiotics in artificial tears solutions. *Am J Ophtalmol.* 1976; vol. 82: 775-80.
26. Chambers H E. Aminoglucósidos. En: Brunton Laurence L., Lazo John S., Parker Keith L. “Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica”. Undécima. Edición. McGraw Hill. 2006. 1155-56.

CAPÍTULO II

Legislación-normativa, anatomía ocular y método de preparación de colirios antibióticos reforzados

CAPÍTULO II: LEGISLACIÓN-NORMATIVA, ANATOMÍA OCULAR Y MÉTODO DE PREPARACIÓN DE COLIRIOS ANTIBIÓTICOS REFORZADOS

1.- INTRODUCCIÓN

Cuando hablamos de preparaciones magistrales estériles para uso oftálmico, en forma de colirios podemos situar a los colirios antibióticos reforzados como una de las más requeridas dentro de estas preparaciones. Para poder elaborar este tipo de medicamentos magistrales estériles de aplicación tópica es necesario conocer algunos aspectos importantes.

Primeramente hablaremos de la vía ocular, luego presentaremos el marco legal sobre formulación magistral en general (normativa nacional y provincial) definiendo términos importantes que permitirán conocer en detalle aspectos de esta disciplina. Más adelante nos dedicaremos específicamente a preparaciones estériles, sus requerimientos particulares, legislación, salas blancas y normativa internacional. Por último la elaboración propiamente dicha de formulaciones magistrales estériles, colirios antibióticos reforzados Vnc-Amk. Definiremos también el grado de riesgo en la elaboración de estos preparados magistrales y presentaremos las dos condiciones de elaboración, tanto en la “sala limpia” del Departamento de Ciencias Farmacéuticas como en el laboratorio de la Farmacia Oficial Vilarrubi.

2.- LA VÍA OCULAR

2.1.- ESTUDIO DE FÓRMULAS OFTÁLMICAS

Existen numerosas patologías oculares que necesitan ser tratadas de la manera más eficaz pero, al mismo tiempo, segura. En la vía ocular tenemos tres tipos principales de administración en el lugar de acción:

- ✓ En superficie ocular (tópica)
- ✓ Inyectables en cámara anterior, intraoculares y retrobulbares
- ✓ Inyectables en zonas peri oculares

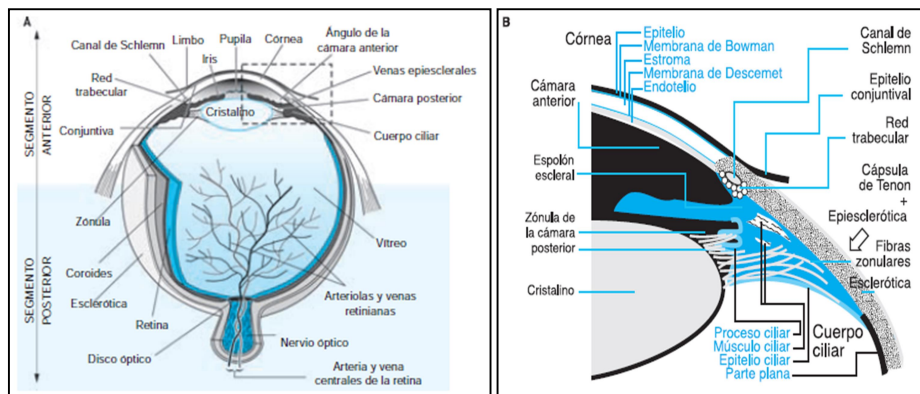
La superficie ocular es una zona poco vascularizada, por lo tanto la utilización de la vía oral u otra vía sistémica para tratamiento de patologías oculares no resulta

adecuada. La llegada de los medicamentos por estas vías acaba siendo, en muchas ocasiones, poco eficaz. Esto hace que se requieran dosis elevadas de fármaco lo que lleva asociado problemas de toxicidad y aparición de efectos secundarios. Por eso, en el tratamiento de las patologías oculares la vía tópica es la más utilizada, ya que además, supone una forma sencilla de auto administración de la medicación. La vía tópica es bien tolerada por el paciente aunque presenta baja biodisponibilidad de la sustancia activa, el parpadeo y la producción de lágrimas, barren y diluyen el principio activo respectivamente.¹

A la hora de desarrollar una fórmula destinada a ser utilizada por esta vía se deben tener en cuenta tanto los aspectos anatómicos y fisiológicos del ojo así como las propiedades fisicoquímicas del fármaco y también de los demás componentes de la fórmula.¹ Esta combinación nos dará un producto final que sea bien tolerado por el paciente y logre el efecto terapéutico.

2.1.a.- ANATOMÍA Y FISIOLÓGIA OCULAR

El ojo se encuentra alojado en una cavidad ósea llamada órbita ocular. Posee seis músculos que permiten los movimientos, la inervación proviene de la rama oftálmica del nervio trigémino y la irrigación ocular se debe a la arteria oftálmica. Las fórmulas magistrales van a ser aplicadas en la unidad anatómica-funcional conocida como *superficie ocular que* engloba diversas estructuras del ojo y los órganos anejos (cejas, párpados, pestañas, conjuntiva, aparato lagrimal, músculos y la cápsula de Tenon) que protegen al ojo de la agresión externa. Figura 1.



Henderer JD, Rapuano CJ, Goodman & Gilman: Las Bases Farmacológicas De La Terapéutica. 11ªed. cap 63. Derechos © McGraw-Hill Education

Figura 1. A, Anatomía del ojo. B, Ampliación del segmento anterior que revela la córnea, las estructuras del ángulo, el cristalino y el cuerpo ciliar.

Bajo la denominación de superficie ocular consideramos a la conjuntiva, el limbo esclerocorneal, el epitelio de la córnea y la película lagrimal. Los párpados, la glándula lagrimal principal y el sistema de drenaje lagrimal constituyen las estructuras esenciales para la adecuada homeostasis de la superficie ocular, contribuyendo a la humectación y eliminación de sustancias.²

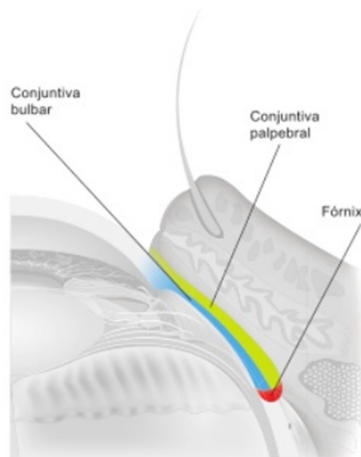
Todo el complejo sistema de la *superficie ocular* se centra en la creación y mantenimiento de una película lagrimal estable con producción de factores de crecimiento epitelial para proteger el epitelio corneal.^{2, 3, 4}

Párpados.-

Constituyen la primera barrera mecánica de protección del globo ocular. Evitan la desecación de la córnea y conjuntiva, protegen la superficie ocular de traumatismos y por medio del parpadeo eliminan las sustancias de desecho y renuevan la película lagrimal.²

Conjuntiva.-

Es una membrana mucosa transparente que tapiza el globo ocular. Está compuesta por epitelio estratificado no queratinizado y un estroma laxo. Nace desde el limbo esclerocorneal hasta los fondos de sacos conjuntivales. Se divide en dos porciones, primero cubre la esclerótica (se le conoce como conjuntiva bulbar) y después recubre la cara posterior de los párpados (donde se le conoce como conjuntiva palpebral).² Figura 2.



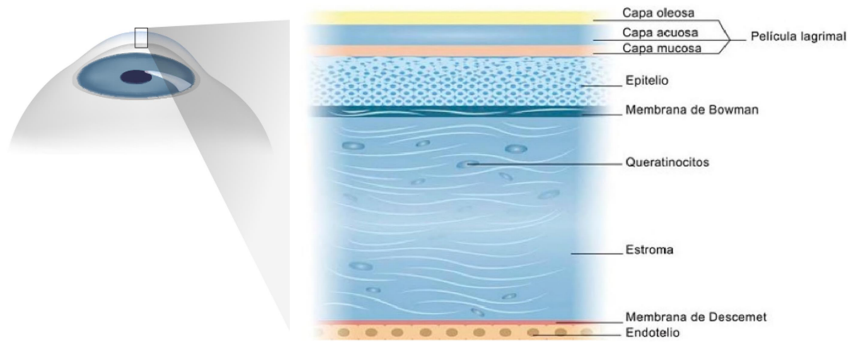
Rojas Juárez S, Saucedo Castillo A. Oftalmología. Ed. El Manual Moderno. Cap 2. Mexico DF. 2014

Figura 2. Conjuntiva en sus porciones bulbar y palpebral.

La conjuntiva segrega la *mucina*, glicoproteína de alto peso molecular, que es esencial para la transparencia de la córnea y disminuye la tensión superficial de la lágrima. La vascularización de la conjuntiva nace en los fondos del saco y corre a través de la conjuntiva bulbar así como de las capas superficiales y profundas, se adelgaza en la región límbica y se anastomosa con los vasos profundos epiesclerales. Por esto se recomienda la colocación de los colirios oftálmicos en el fondo del saco conjuntival.²

Córnea.-

Es un tejido óptico transparente y avascular a través del cual se introduce la luz en el ojo. Tiene una enorme capacidad de refracción lo que permite que la luz, una vez que atraviesa la córnea, quede enfocada en la retina.⁵ Está dividida en tres capas: Epitelio corneal, estroma y endotelio. Figura 3.



Rojas Juárez S, Saucedo Castillo A. Oftalmología. Ed. El Manual Moderno. Cap 2. Mexico DF. 2014

Figura 3. Estructura corneal

La capa más externa, el epitelio corneal, está constituida por unas cinco capas de células en constante renovación y con una estructura muy regular de grosor aproximado de 50-60 μm y se caracteriza por los abundantes desmosomas en las uniones intercelulares y hemidesmosomas que anclan el epitelio a la membrana basal. Tiene como función principal servir de barrera frente a patógenos y frente a la captación de un exceso de líquido por parte del estroma. El metabolismo de las células epiteliales de la córnea requiere de oxígeno, glucosa, aminoácidos y vitaminas. La glucosa, aminoácidos y vitaminas proceden principalmente del humor acuoso, mientras que el oxígeno se obtiene por difusión desde la película lagrimal.²

La capa intermedia, el estroma, representa el 90% del espesor de la córnea. Está constituida por fibras de colágeno y proteoglicanos que interaccionan entre sí formando

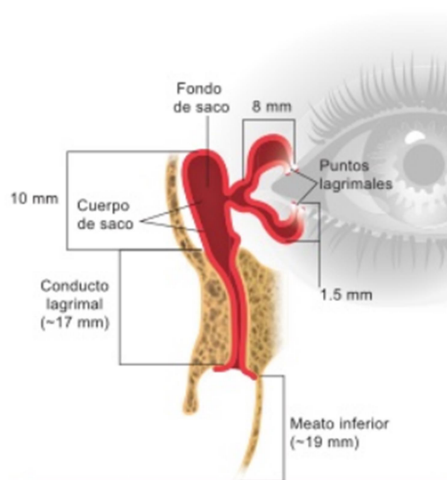
una matriz extracelular de gran resistencia mecánica que contribuye a la transparencia corneal.³

Por último, la capa interna, el endotelio corneal, está constituida por una única capa de células que no tienen capacidad de replicación. Estas células son imprescindibles para mantener la transparencia de la córnea al actuar como barrera entre el humor acuoso y el estroma y al permitir la entrada de nutrientes a éste último. Además, existe un mecanismo endotelial de sistemas de transporte y de canales que regula el nivel de hidratación para mantener en buen estado la estructura del estroma.⁶

El epitelio y el endotelio son lipídicos, en cambio, el estroma es acuoso (contiene entre 70 y 80% de agua). Por su naturaleza, estas capas constituyen barreras para fármacos hidrófilos y lipófilos respectivamente, pudiendo limitar su penetración.⁷

Lágrimas y parpadeo.-

En la zona que rodea el ojo, se encuentran las glándulas lacrimales y las glándulas sebáceas, encargadas de lubricar la superficie corneal y la conjuntiva. Las glándulas lacrimales secretan las lágrimas y las glándulas sebáceas un líquido oleoso que se extiende sobre las lágrimas evitando su evaporación y así la sequedad ocular, protegiendo la córnea.⁸ Figura 4.



Rojas Juárez S, Saucedo Castillo A. Oftalmología. Ed. El Manual Moderno. Cap 2. Mexico DF. 2014

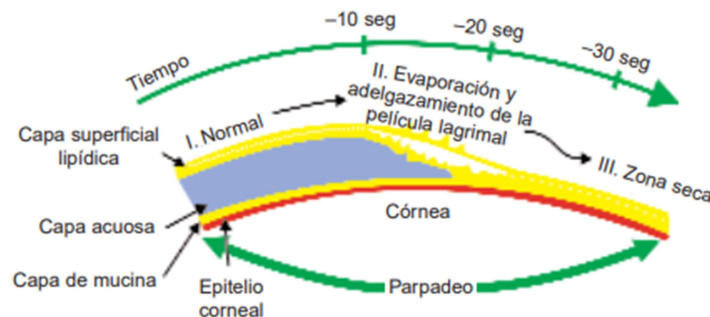
Figura 4. Aparato lagrimal excretor

Este fluido lagrimal tiene un volumen de aproximadamente 7 μ L que se reparten adecuadamente por toda la superficie del ojo gracias al reflejo del parpadeo.⁹ La

capacidad máxima de líquido que puede retener se aproxima a los 30 μL que es el volumen mínimo que suelen proporcionar una gota de los frascos de colirios.

El parpadeo además, permite drenar el fluido facilitando su renovación y eliminando excesos o sustancias extrañas. Esto puede resultar problemático a la hora de administrar un fármaco. En el momento en que se produce un aumento del volumen de líquido en el ojo, la producción de lágrimas y el parpadeo aumentan para compensar ese exceso, lo que hace que el fármaco se diluya o que el tiempo de retención sea insuficiente para producir un efecto. Por esto, se recomienda instilar no más de 20-30 μL (una gota) cada vez, pues éste es el límite de volumen que es bien tolerado. Volúmenes más elevados, serán directamente drenados o derramados.¹⁰

En condiciones normales una persona parpadea 15 veces por minuto, en promedio. Algunos de estos parpadeos pueden no ser completos (el párpado superior desciende sólo la mitad hacia el párpado inferior). Por lo general el tiempo de rotura de la película lagrimal es más prolongado que el intervalo entre los parpadeos y no se produce desecación corneal. El valor normal del tiempo de rotura de la lágrima varía de 10 a 40 segundos en los ojos normales.¹¹ Figura 5.



Garg A. Fisiopatología de la película lagrimal. Ojo Seco y Otros Trastornos de la Superficie Ocular. 1ª edición. India: ed. Panamericana; 2008: 7.

Figura 5. Mecanismo del tiempo de rotura de la película lagrimal

2.1.b.- ABSORCIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS OFTÁLMICOS

En la administración tópica de medicamentos, la forma más común de penetración del principio activo es mediante difusión pasiva. Las sustancias hidrófilas penetran a través de los espacios intercelulares mientras que las sustancias lipófilas lo hacen a través de las células.¹²

La córnea, como ya se ha visto, presenta capas lipófilas e hidrófilas. Aquellos fármacos que presenten las dos características serán los que mejor penetren. En cuanto al peso molecular, fármacos con un peso molecular superior a 500 pueden resultar problemáticos al administrarlos por esta vía.¹²

Por todo esto, es importante realizar estudios de preformulación para conocer las propiedades fisicoquímicas del fármaco que vaya a emplearse en el desarrollo de la formulación. Las propiedades fisicoquímicas de un fármaco tales como solubilidad, lipofilia, peso molecular, carga y grado de ionización, pueden afectar el grado y la ruta de penetración en la córnea.¹²

Por otro lado, las lágrimas contienen numerosas enzimas capaces de metabolizar el fármaco, durante o después de la absorción, inactivándolo.

Parte del principio activo administrado puede ligarse a las proteínas tanto en las lágrimas como en la parte anterior del ojo, lo cual influirá negativamente en la biodisponibilidad del mismo. Los principios activos disueltos en la película lacrimal penetran en el globo ocular casi exclusivamente a través de la córnea, ya que gran parte del principio activo que atraviesa la conjuntiva se pierde rápidamente en la corriente sanguínea y sólo una pequeña cantidad difunde a través de la zona limbal y de la esclerótica.¹³ Cuando los principios activos alcanzan el espacio subconjuntival pasan rápidamente al torrente sanguíneo, pudiendo penetrar en los tejidos más profundos. Debido a la constitución en capas lipófilas e hidrófilas de la córnea para poder pasar a través de una córnea intacta las sustancias deben ser a la vez liposolubles e hidrosolubles, ya que las exclusivamente hidrosolubles no pueden atravesar el epitelio y las liposolubles no pueden atravesar el estroma. Las sustancias liposolubles (no polares), y de estructura atómicas simétricas, penetran más rápidamente en el interior del ojo cuando el epitelio corneal está intacto, y más difícilmente cuando está lesionado (lo contrario ocurre evidentemente con las sustancias hidrosolubles).¹⁴

La permeabilidad del epitelio corneal varía considerablemente de acuerdo con la disociación de las sustancias que depende principalmente del pH de la solución.¹⁴

3.- LEGISLACION Y NORMATIVA

3.1.- FORMULACIÓN MAGISTRAL DE PRODUCTOS

3.1.a.- LEGISLACIÓN DE LA REPÚBLICA ARGENTINA

Tanto el Estado Nacional como las distintas provincias han legislado sobre la actividad profesional del farmacéutico, la farmacia y la formulación magistral. En particular ésta última está regida a nivel nacional por la Farmacopea Argentina 7^oed. Vol I. En el apartado de medicamentos oficinales <1027> se establecen las buenas prácticas de preparación de medicamentos magistrales, detallando los aspectos que deben ser tenidos en cuenta desde el personal, instalaciones, higiene, documentación, materia prima, envases y controles de calidad obligatorios para cada forma farmacéutica.

Cuando nos concentramos en la elaboración magistral de medicamentos estériles, deben realizarse según Farmacopea, los mismos controles de esterilidad <370>, que se realizan a nivel industrial. Figura 6.

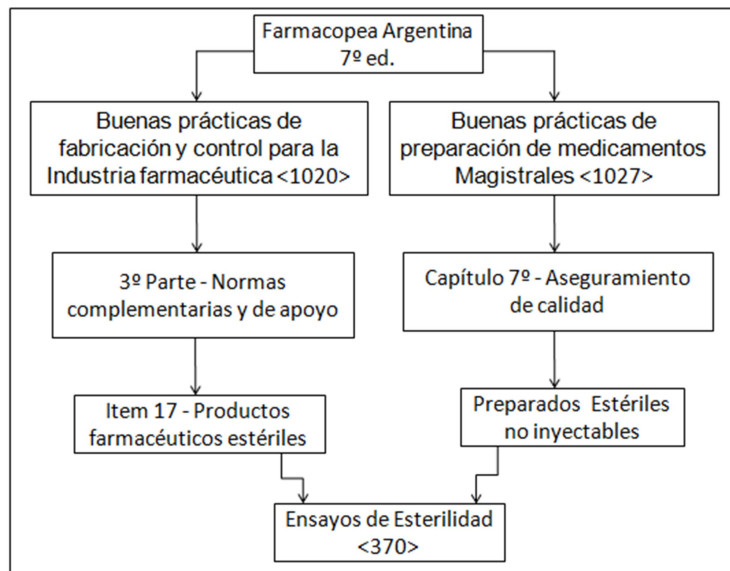


Figura 6. FA 7^o Ed. Ensayos de esterilidad para preparados magistrales estériles y especialidades medicinales industriales

3.1.b- LEGISLACIÓN DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA

A nivel provincial también se ha trabajado en la redacción y aprobación de los siguientes documentos para la preparación de medicamentos magistrales que procederemos a detallar:

“Guía de Buenas Prácticas de la Actividad Farmacéutica - Elaboración de Productos Sanitarios Oficinales (PSO)” Res 379/15. Es el conjunto de normas que establecen los procedimientos y procesos considerados pertinentes y adecuados para la elaboración de productos sanitarios. Tiene por objeto fijar pautas generales para la elaboración y comercialización en pequeña escala de PSO, elaboradas en el ámbito del laboratorio de una Farmacia.¹⁵

Es importante definir que....

Producto Sanitario Oficinal (PSO): es toda preparación que por su necesidad sanitaria en la población, sus características fármacotécnicas, sus exigencias de calidad y sus variables de estabilidad, es posible de ser elaborada en el ámbito de una oficina de Farmacia Comunitaria o una Farmacia hospitalaria/institucional, en un sector específico destinado a tal fin, denominado genéricamente laboratorio. Dentro de los PSO se encuentran:

- Medicamentos magistrales, oficiales, normalizados y homeopáticos
- Productos para higiene y cosmética magistrales, oficiales, normalizados y de diseño farmacéutico
- Germicidas o germistáticos para uso institucional o domiciliario magistrales, oficiales y normalizados

Los PSO (medicamentos, productos para higiene y cosmética, y germicidas o germistáticos para uso institucional o domiciliario) se agruparán en las siguientes subcategorías:

- **Magistral:** corresponde a medicamentos, productos para higiene y cosmética, y germicidas o germistáticos para uso institucional o domiciliario; descritos por una fórmula cualitativa y cuantitativa asociada a un modo de preparación y uso; prescritos por un profesional habilitado y elaborados por un farmacéutico; destinados a un paciente en particular. Para su elaboración, el profesional

prescriptor deberá indicar claramente la concentración del o los principio activos, y en casos en que sea necesario, vehículos o excipientes. Indicará además la dosis, posología y período de tratamiento.

- **Oficial:** corresponde a medicamentos, productos para higiene y cosmética, y germicidas o germistáticos para uso institucional o domiciliario; listados en la FA y elaborados en base a sus indicaciones. Las Farmacias podrán elaborar este tipo de productos, en cantidades acordes a los fines sanitarios del Establecimiento. Cuando corresponda, un producto sanitario oficial será dispensado mediante la presentación de una prescripción por parte de un profesional habilitado.
- **Normalizado:** corresponde a medicamentos, productos para higiene y cosmética, y germicidas o germistáticos para uso institucional o domiciliario elaborados y dispensados en una Farmacia, cuya fórmula cuali-cuantitativa ha sido probada durante un período de tiempo tal que; tras una evaluación exhaustiva por parte de la Comisión Permanente de Buenas Prácticas de Elaboración de PSO -u organismo que en el futuro la reemplace-, y posterior autorización por parte de la Autoridad de Aplicación, permita incorporarlo a un formulario de consenso provincial -denominado formulario provincial de PSO normalizados-; que posibilite su elaboración en forma programada, resultando en la obtención de lotes con un número reducido de unidades, acorde a las necesidades terapéutico-sanitarias de la zona de acción del establecimiento. Cuando corresponda, un producto sanitario normalizado será dispensado mediante la presentación de una prescripción por parte de un profesional habilitado. En el caso de los Establecimientos Asistenciales, podrán disponer además de, productos sanitarios normalizados cuando sean aprobados por el Comité de Farmacia y Terapéutica de su institución y para ser utilizados en la misma.

“Formulario Provincial de Productos Sanitarios Oficinales Normalizados”.

Este formulario es un listado de productos sanitarios autorizados recopilados por la Comisión Permanente de Buenas Prácticas de Elaboración de PSO y autorizados por parte de la Autoridad de Aplicación para su elaboración en la Farmacia.¹⁶ Resolución DJF N° 384/2015. En este listado la descripción de cada fórmula oficial incluirá los siguientes aspectos:

- Fórmula cualitativa y cuantitativa.
- Procedimiento operativo estándar de elaboración
- Parámetros de calidad relevantes (aspecto, color, olor, pH, etc.)
- Período de vida útil
- Condiciones de conservación
- Acción terapéutica
- Usos y aplicaciones
- Posología y dosis recomendadas
- Precauciones generales, interacciones e incompatibilidades si las hubiere.

A los efectos de lo recogido en la legislación nos pareció pertinente tener presente algunos conceptos que serán mencionados en capítulos siguientes tales como:

- *Envasado* - Todas las operaciones, incluyendo las de llenado y rotulado, a las que tiene que ser sometido un producto a granel para que se convierta en un producto terminado.
- *Lote* - Una cantidad definida de materia prima, material de envase, o producto terminado en un solo proceso o en una serie de procesos, de tal manera que puede esperarse que sea homogéneo.
- *Pequeña escala* - corresponde a un volumen de actividad compatible con el que administra normalmente una Farmacia officinal o institucional. Por ello es que la pequeña escala tiene como sinonimia “escala officinal”. También se tendrán en cuenta las características particulares de cada formulación.
- *Procedimiento operativo normalizado* - Procedimiento escrito y autorizado, que contiene instrucciones para realizar operaciones que no necesariamente son específicas para un producto o material determinado, sino de naturaleza más general (por ejemplo: manejo, mantenimiento y limpieza de equipos; comprobación; limpieza de instalaciones y control ambiental; muestreo e inspección)
- *Producto a granel* - Todo producto que ha completado todas las etapas del procesamiento, hasta el envasado final, pero sin incluir este último.
- *Producto terminado* - Producto que ha sido sometido a todas las etapas de producción, incluyendo el envasado en el envase final y el rotulado.

- *Rotulado*- El rótulo de cada producto deberá establecer el contenido del o de los principios activos expresados en las monografías.
- *Validación* - Acción documentada que demuestra que un procedimiento, proceso, equipo, material, actividad, o sistema conduce a los resultados previstos

3.2- FORMULACION MAGISTRAL DE PRODUCTOS ESTERILES

La legislación y normativa que refiere a formulaciones estériles está dirigida a la producción a gran escala, o sea a nivel industrial, mientras que el propósito de desarrollar formulaciones magistrales estériles apunta a una preparación más individualizada para el paciente y no necesariamente de manera continua en su producción. Aun así, para desarrollar medicamentos a mayor o menor escala, los principio de calidad, seguridad y eficacia son los mismos.

Todos los textos reglamentarios sobre fabricación de medicamentos estériles se basan en los mismos preceptos por lo que los citaremos a título informativo, pero para realizar nuestro trabajo nos centramos en la legislación Argentina.

- United States Food and Drug Administration. Code of federal Regulations Title 21, part 210, current Good Manufacturing Practice in Manufacturing, Processing, Packing or Holding of Drugs; General.
- United States Food and Drug Administration. Code of federal Regulations Title 21, part 210, current Good Manufacturing Practice for finished Pharmaceuticals.
- World Health Organization WHO Good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products. Annex 6. Technical Report Series, No. 961, 2011
- Las Normas de Correcta Fabricación de medicamentos de uso humano y veterinario (NCF) de aplicación exclusiva a la fabricación industrial de medicamentos, que dedica su Anexo I las normas aplicables a la fabricación industrial de medicamentos estériles.
- ISO 14644 compuesta por:
 - ISO 14644-1: Clasificación de la limpieza del aire.
 - ISO 14644-2: Especificaciones para pruebas y monitoreo para demostrar el cumplimiento continuo con ISO 14644-1
 - ISO 14644-3: Métodos de prueba

- ISO 14644-4: Diseño, construcción y puesta en marcha
- ISO 14644-5: Operaciones
- ISO 14644-6: Vocabulario
- ISO 14644-7: Dispositivos de separación (campanas de aire limpio, cajas de guantes, aisladores y mini sistemas).
- ISO 14644-8: Clasificación de la contaminación molecular transmitida por el aire.
- ISO 14644-9: Clasificación de la limpieza de las partículas de la superficie.
- ISO 14644-10: Clasificación de la limpieza de la superficie por. Concentración química
- ISO 14644-12: Clasificación de la limpieza del aire por concentración de partículas a nano escala

En Argentina, disponemos de:

- *Normas de correcta fabricación y control de la Farmacopea Argentina, para la fabricación de medicamentos a nivel industrial, dedica el capítulo 17 a la formulación de estériles.*
- *Disposición ANMAT N° 3602/2018. Guía de Buenas prácticas de fabricación para elaboradores, importadores/exportadores de medicamentos de uso humano. Anexo 1. Fabricación de medicamentos estériles.*

Los textos reglamentarios mencionados, especifican las acciones que deben ser tenidas en cuenta para la fabricación de preparaciones estériles con el objeto de reducir al mínimo los riesgos de la contaminación microbiológica, por partículas y pirogénica.

1. La fabricación de productos estériles debe realizarse en zonas limpias. El acceso a estas zonas debe realizarse a través de esclusas reservadas para el personal y/o los equipos y materiales. Las zonas limpias deben mantener un nivel de limpieza adecuado y han de estar dotadas de aire filtrado a través de filtros de una eficacia apropiada.
2. Las diversas operaciones de preparación de los componentes, preparación del producto y llenado deben realizarse en zonas separadas dentro de la zona limpia.

Las operaciones de fabricación se clasifican en dos categorías: en primer lugar, aquellas en que el producto se esteriliza al final y, en segundo lugar, aquellas que se realizan asépticamente en todas o algunas de sus fases.

3. Las zonas limpias para la fabricación de productos estériles se clasifican según las características requeridas del entorno. Cada operación de fabricación exige un grado adecuado de limpieza del entorno en estado de funcionamiento para minimizar los riesgos de contaminación microbiana o de partículas en el producto o los materiales que se estén manipulando.

3.2.a- CLASIFICACIÓN DE ZONAS Y SALAS BLANCAS

Cuando hablamos de formulaciones preparadas en condiciones estériles es necesario definir lo que es zona limpia.

Zona limpia: es un ambiente que está controlado de forma determinada respecto a la contaminación microbiológica y por partículas, que está construida y se utiliza de forma que queda reducida la introducción, producción y retención de contaminantes en dicha zona.

Algunos de los sistemas de seguridad que evitan que el material con el que se trabaje se vea contaminado por microorganismos del medio ambiente son:¹⁷

- ✓ El aire que entra en la sala es estéril ya que ha sido filtrado para eliminar partículas en suspensión y microorganismos. Se renueva completamente varias veces por hora para no acumular polvo.
- ✓ Las salas se mantienen en una escala de presiones ligeramente superiores a la del exterior, de forma que cuando se abren las puertas el aire sale y no puede entrar aire del exterior. Se suele adoptar para presurización un valor de 25 ± 5 Pa.
- ✓ La temperatura y humedad son controladas rigurosamente y se admiten variaciones de $\pm 0,5$ °C de temperatura y ± 1 % de humedad.
- ✓ Las paredes están recubiertas de vinilo y los rincones son redondeados para evitar acumulaciones de suciedad.
- ✓ Los pisos lisos, continuos y sin juntas recubiertos de plástico, epoxi o poliéster.
- ✓ Los operarios deben vestirse con trajes especiales para no llevar contaminantes ni generar partículas de polvo.

- ✓ Las esclusas mantienen las diferencias de presión entre las salas y las aíslan del exterior.
- ✓ En las salas blancas se utilizan filtros especiales llamados filtros HEPA (High Efficiency Particle Air) y ULPA (Ultra Low Penetration Air)

Según la Disposición de ANMAT N° 3602/2018 para la fabricación de medicamentos estériles se distinguen cuatro grados de salas, de acuerdo a la calidad del aire requerido en cada operación de fabricación. Estos son:

- ✓ Grado A: zona donde se realizan operaciones de alto riesgo tales como la zona de llenado, de bandejas de taponés, de ampollas y viales abiertos y de realización de conexiones asépticas. Normalmente estas condiciones son provistas por estaciones de trabajo de flujo laminar. Los sistemas de flujo laminar deben proporcionar una velocidad homogénea del aire en un intervalo de 0,36 – 0,54 m/s (valor orientativo) a la misma altura a la cual los productos y componentes están ubicados. Debe demostrarse y validarse el mantenimiento de la unidireccionalidad del flujo de aire en el área grado A. El ingreso de operadores en áreas grado A debe ser minimizado por el correcto diseño de área, proceso y procedimiento.
- ✓ Grado B: entorno para la zona de grado A en el caso de preparación y llenado asépticos.
- ✓ Grados C y D: zonas limpias para realizar fases menos críticas de la fabricación de productos estériles.

Clasificación de salas limpias y dispositivos de aire limpio. Disposición de ANMAT N° 3602/2018, Anexo 1. Punto 4.

Las disposiciones de ANMAT establecen que salas limpias deben clasificarse según los estándares de la norma ISO 14644-1: 2015. En la siguiente tabla se muestra la máxima concentración de partículas permitidas por m³ de aire para las diferentes zonas y actividades. Para partículas iguales o menores de 0,5 µm e iguales o mayores de 5 µm en dos condiciones de ensayo: “en reposo” y “en funcionamiento”. Tabla 2.

Tabla 2. Concentración de partículas permitidas por m³ de aire para las diferentes zonas y actividades

| Número máximo de partículas de tamaño igual o superior al indicado en la tabla permitido por m ³ (¹) | | | | | |
|--|-----------------------|-----------------------------|------------------------------------|----------------------|-----------------------------|
| Clasificación de Áreas | | | Monitoreo continuo(^c) | | |
| | En reposo* | En funcionamiento* | Clase ISO en reposo/operación | En reposo | En funcionamiento |
| Grado | 0,5 µm/m ³ | 0,5 µm/m ³ | | 5 µm/ m ³ | 5µm/ m ³ |
| A(^b) | 3.520 | 3.520 | 5/5 | -20 | 20 |
| B | 3.520 | 352.000 | 5/7 | 29 | 2.900 |
| C | 352.000 | 3.520.000 | 7/8 | 2.900 | 29.000 |
| D | 3.520.000 | No definido(^a) | 8 | 29.000 | No definido(^a) |

*En reposo- Clasificación de la sala se realiza cuando la instalación está completa, incluyendo los equipos de producción, funcionando pero sin que esté presente el personal.

*En funcionamiento- Clasificación de la sala cuando la instalación está funcionando de acuerdo con lo especificado, incluido el personal.

(¹)- Los valores de partículas de diferentes tamaños deben interpretarse como partículas mayores o iguales a X (por ejemplo $\geq 0,5 \mu\text{m}$)

(^a) Para grado D no están definidos los límites en operación, la empresa deberá establecer sus límites basados en el análisis de riesgo y en datos históricos (estudios de tendencias), cuando corresponda.

(^b) Para clasificar las zonas en grado A debe tomarse en cada punto de muestreo un volumen mínimo de muestra de 1 m³.

(^c) Los datos de partículas de este tamaño deben estar informados junto con el tamaño de 0,5 µm

3.2.b- ANTECEDENTES Y EVOLUCIÓN DE LOS ESTÁNDARES ISO

La calificación de las salas blancas en base a la limpieza del aire, según la legislación, debe realizarse según los estándares ISO. Por lo que es pertinente comentar antecedentes y estado actual de estas normas tan importantes.

La Federal Standar 209, fue la norma pionera que regía desde 1963 en Estados Unidos para la clasificación del aire en cuanto a la cantidad de partículas. El 29 de Noviembre de 2001 la USGSA (United States General Services Administration) anuló la norma Federal Standar 209-E siendo sustituida por los estándares ISO (International Organization for Standardization) 14644-1 (Clasificación de la limpieza del aire) y 14644-2 (Especifica las pruebas y monitoreo para demostrar el cumplimiento continuo con ISO 14644-1), cuya primera edición fue promulgada a nivel internacional en 1999 y se estableció como la única norma de referencia para la clasificación de la limpieza del aire en recintos controlados en todo el mundo, para aplicación en la industria farmacéutica, aeroespacial, alimentaria, microelectrónica, etc. Figura 7.

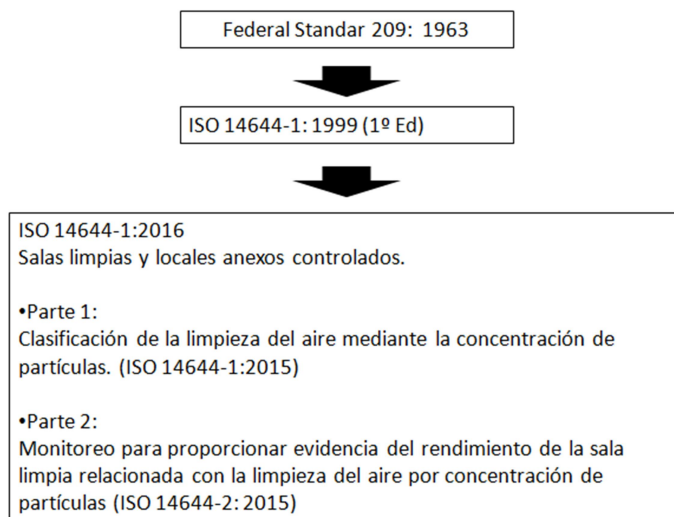


Figura 7. Evolución de las Normas para la estandarización en la elaboración industrial con requerimientos especiales.

La Norma ISO-14644 se basa exclusivamente en la concentración de partículas en suspensión para clasificar la limpieza del aire, se monitorean partículas de 0,1 µm, 0,2 µm, 0,3 µm, 0,5 µm y 5 µm por metro cúbico de aire en tres condiciones de ensayo:

“Dispuesta para funcionar”.- zona limpia cuando la instalación está completa y funcionando pero sin dispositivos de producción, materiales o personas.

“Funcionamiento en vacío”: cuando la instalación está completa, incluyendo los dispositivos de producción, pero sin personal.

“Funcionando”: cuando la instalación está funcionando de acuerdo con lo especificado incluido el personal.

En 2015 se promulgó la nueva edición de la norma ISO 14644-1, Tabla 3, cuyo cambio más importante es que se suprimen los conteos de bajo número de partículas, en particular el de 5µm.

Tabla 3. ISO 14644-1: 2015. Límites de aceptación y modificaciones.

| Límites de Aceptación por concentración de partículas en el aire | | | | | | |
|--|---------|--------|--------|----------|---------|--------|
| ISO 14644-1 | | | | | | |
| Número de Clase ISO | 0,1µm | 0,2µm | 0,3µm | 0,5µm | 1µm | 5µm |
| ISO 1 | 10 | (2) | | | | |
| ISO 2 | 100 | 24 | 10 | (4) | | |
| ISO 3 | 1000 | 237 | 102 | 35 | (8) | |
| ISO 4 | 10000 | 2370 | 1020 | 352 | 83 | |
| ISO 5 | 100000 | 23700 | 10200 | 3520 | 832 | (20) |
| ISO 6 | 1000000 | 237000 | 102000 | 35200 | 8320 | 298 |
| ISO 7 | | | | 352000 | 83200 | 2980 |
| ISO 8 | | | | 3520000 | 832000 | 29800 |
| ISO 9 | | | | 35200000 | 8320000 | 298000 |

- Se suprimen los contajes de bajo número de partículas (**números en rojo**) Se justifica por limitaciones estadísticas y de muestreo que no aseguran la consistencia de los datos medidos en concentraciones bajas.
- Las bajas concentraciones obligan a niveles grandes de volúmenes de aire de muestreo y largos tiempos de conteo.
- No aplicable por el alto número de partículas.
- El tamaño 5 μm se considera inadecuado en estas clasificaciones por su tamaño y baja concentración.

En este punto surge el primer conflicto con las normativas farmacéuticas y biotecnológicas que consideran el tamaño 5 μm como un elemento fundamental en la clasificación de zonas y procesos estériles. Las características de esterilidad utilizadas en la industria Farmacéutica y biotecnológica son muy sensibles al tamaño de partícula mayor o igual 5 μm por dos motivos:

1. Representa una alarma temprana sobre la posibilidad de un problema de contaminación
2. Los microorganismos en general tienen tamaños menores a 1 μm pero tienden a agruparse en parejas, cadenas o clústeres formando unidades con tamaños mayores a 5 μm .¹

Para subsanar esta cuestión, la organización especifica en un anexo que si los riesgos de contaminación causados por partículas de tamaño igual o superior a 5 μm han de ser evaluados y emplearán instrumentos y procedimientos de medición adecuados para las características específicas de esas partículas.

Nos parece interesante presentar en forma gráfica las equivalencias entre los grados de salas A, B, C y D según las Disposiciones de ANMAT para la elaboración de estériles y la clasificación ISO, de acuerdo a la máxima cantidad de partículas aceptadas en cada sector. Figura 8.

¹ El límite de clasificación considerado por las normas de 0,5 μm y 5 μm reside en el hecho de que es conocido que partículas $\geq 0,5 \mu\text{m}$ son capaces de transportar microorganismos que en general miden 0,3 μm (Colome, 2005). Las partículas que son aerotransportadas poseen formas variables y están compuestas de todo tipo de materiales (Pi, 2006). Además pueden actuar como “transportadores” de bacterias, De ahí que se distinga entre partículas viables y partículas no viables o inertes. (Pi, 2006) Como ejemplos de partículas viables están: bacterias, mohos, hongos y esporas. Las partículas no viables incluyen sustancias tales como compuestos orgánicos, metales, compuestos inorgánicos y sal marina. (Echeverri y Maya, 2008).

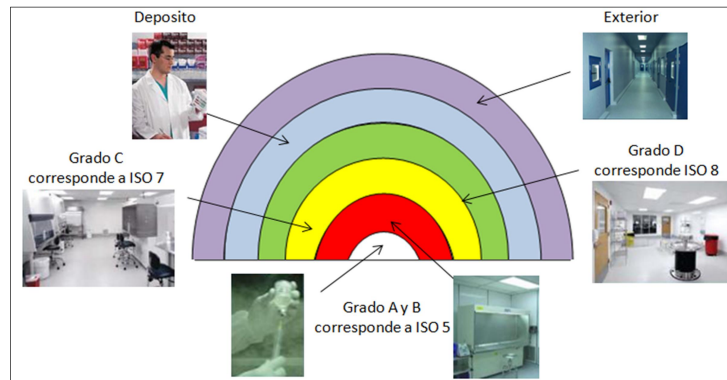


Figura 8. Grado de sala blanca y su equivalente en Normativa ISO 14644.

3.3.- ASPECTOS FUNDAMENTALES PARA ASEGURAR LA ESTERILIDAD DE LA FORMULACIÓN

En el capítulo anterior mencionamos los aspectos que consideramos fundamentales para asegurar la esterilidad de la formulación:

1. Calidad de los componentes incorporados.
2. Procedimiento de preparación utilizado: Se trabaja en cabina de flujo laminar y con prácticas de manipulación asépticas.
3. Desempeño, habilidad, formación y actitud del personal implicado. El responsable de la formulación debe manejar técnicas adecuadas para el trabajo en cabinas de flujo laminar, manipulación de jeringas, viales y agujas. El lavado correcto de manos y la vestimenta adecuada. También la desinfección y limpieza de equipos y el correcto manejo de los componentes o ingredientes.
4. Condiciones ambientales en las que se realiza el procedimiento. Estos procesos se realizan en salas limpias, con filtros especiales y control de presión y temperatura.

Haremos hincapié en los puntos más críticos, aquellos que dependen del operador y su manejo en la técnica aséptica, también la documentación de las actividades realizadas y mantenimiento correcto del equipamiento.

3.3.a.- Desempeño y formación del personal implicado

Cuando hablamos de preparaciones magistrales estériles es necesario comprender que uno de los principales inconvenientes son los errores que pudiere cometer el personal involucrado en la elaboración.

Según la Sociedad Americana de Farmacéuticos de Hospitales (ASHP), el farmacéutico es el responsable de la elaboración y dispensación de productos estériles que cumplan unas características adecuadas de composición, compatibilidad y esterilidad. Los servicios de Farmacia deben tomar las medidas necesarias para asegurar la calidad en el proceso de elaboración.¹⁸

Es sumamente necesaria la formación y capacitación del farmacéutico para tal fin. Es por ello que consideramos fundamental profundizar en el conocimiento de la técnica aséptica, ya que trabajar de manera correcta promueve a mantener la esterilidad de los componentes iniciales y poder garantizar un producto final estéril y seguro.

Para ello definiremos a las técnicas asépticas como...

Conjunto de procedimientos y actividades que se realizan con el fin de disminuir al mínimo las posibilidades de contaminación microbiológica durante la preparación de medicamentos estériles.

Se utiliza a menudo en la preparación de recetas que no pueden ser esterilizadas por alguna causa y que todos sus componentes son estériles. En estos casos la esterilidad debe preservarse mediante el uso de materiales estériles y en un ámbito operativo controlado.¹⁹

3.3.b.- Limpieza de los espacios de trabajo, mobiliario y equipos

Se consideran dos tipos de limpieza: la limpieza rutinaria (de superficies de trabajo) que se realiza con cada sesión de trabajo y la limpieza profunda (periodicidad semanal; incluye todos los elementos y estructuras presentes). La desinfección rutinaria debe hacerse luego de la limpieza efectuada antes de comenzar la jornada de trabajo; la desinfección profunda, luego de la limpieza profunda, en forma semanal.

La Farmacia debe contar con un manual de procedimientos de limpieza para el Área de laboratorio, acorde al tipo de preparaciones que se realicen en el mismo. El

Director Técnico es el responsable de generar, implementar y documentar los procedimientos apropiados para mantener la seguridad, orden, higiene y limpieza en el laboratorio.

Se proponen dos procesos:

- Sanitización del laboratorio: efectuar una limpieza en todas las superficies, especialmente en las mesadas de trabajo, utilizando una emulsión tensioactiva diluida en agua corriente. Posteriormente enjuagar con agua corriente utilizando esponja o paño limpio. Proceder luego a la desinfección con solución de hipoclorito de sodio al 0,5 % m/v de cloro activo (partiendo de una solución comercial de hipoclorito de sodio de 55 g/L de cloro activo, tomar 91 ml de la misma y llevar a volumen final de 1000 ml con agua corriente. Esta solución permanece activa alrededor de 72 hs., conservada en lugar fresco y al abrigo de la luz). Este procedimiento deberá efectuarse al menos una vez cada 15 días. No obstante, finalizado cada proceso de elaboración, deberá limpiarse y desinfectarse las mesadas de trabajo.

- Materiales de laboratorio: todo material utilizado para la elaboración de un producto sanitario se deberá limpiar tan pronto se haya utilizado, con detergente y agua corriente utilizando esponja y/o cepillo. Por último enjuagar con agua destilada y secar. Previo a ser utilizado para la elaboración de un producto sanitario todo material deberá ser desinfectado haciendo correr por su superficie una película de alcohol etílico de 70 °GL (a 100 ml de alcohol etílico uso medicinal de 96 °GL agregar 40,8 ml de agua destilada).^{15, 19}

Normas en el área de trabajo

No se debe comer, beber, fumar ni almacenar alimentos en el área de preparación. El personal no utilizará maquillaje ni otros productos cosméticos, debe despojarse de todo tipo de joyas, recoger el cabello, retirar cualquier resto de maquillaje o esmalte de uñas. Es fundamental el correcto lavado clínico de manos, el uso de barreras físicas estériles como guantes, gorro, mascarilla, delantal y barbijo.¹⁹

No deben trabajar en la manipulación aséptica aquellas personas que presenten un proceso infeccioso (gripe, catarro, etc.).

La manipulación de los elementos utilizados en la producción debe ser de manera cuidadosa, evitando movimientos bruscos, para minimizar el movimiento de

aire. También es importante, en el interior de la cabina de flujo laminar, tener en cuenta la ubicación ordenada de los elementos, para no obstruir el flujo de aire o generar turbulencias. Se debe limitar los movimientos de brazos en la superficie de trabajo y las aperturas de puertas durante la preparación con el fin de minimizar las turbulencias de aire.¹⁹

Cualquier elemento no estéril ubicado en la superficie de trabajo de la cabina debe ser desinfectado previamente con alcohol etílico al 70%.

En caso de trabajar con mechero es importante manipular los elementos de trabajo cerca de la llama, (20 cm como máximo) ya que es allí donde se garantiza una zona aséptica segura.^{20, 21} Figura 9.

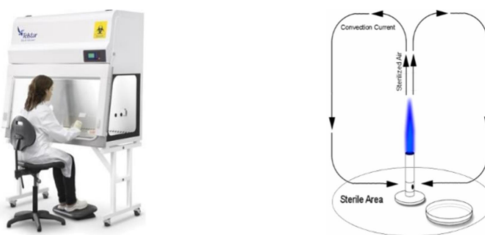


Figura 9. Cabina de flujo laminar y área estéril generada por la llama del mechero

En el laboratorio es indispensable que toda actividad sea realizada con pulcritud, limpieza y precisión pues de esto depende que los resultados sean cien por ciento confiables.

3.3.c.- Documentación

El personal debe comprender la importancia de la documentación de todas las operaciones que se realizan a diario, las que deben quedar perfectamente registradas. Su archivo podrá ser en papel o electrónico y reflejará las condiciones bajo las cuales se llevó a cabo cada jornada laboral y todos los elementos y personal involucrado. El sistema de registros comprende:¹⁵

- ✓ Planillas de recepción de insumos.
- ✓ Receta médica.
- ✓ Procedimiento de elaboración.
- ✓ Planilla de control de calidad.

- ✓ Planilla de producto terminado.
- ✓ Limpieza de instalaciones y equipos.
- ✓ Certificación y recertificación de áreas y equipos.

Estas acciones hacen posible la trazabilidad o seguimiento retrospectivo de todos los elementos intervinientes en la preparación. Puesto que se trabaja a partir de especialidades medicinales, la calidad de estos productos no es responsabilidad del farmacéutico a cargo (de ahí que no se practica control de calidad sobre materias primas), sin embargo sí lo es su conservación. Por este motivo, se recomienda solicitar a los proveedores, y tener disponibles los protocolos de análisis de los lotes de las especialidades medicinales y/o medicamentos y otros dispositivos médicos utilizados y/o el certificado de aprobación por la ANMAT. Ante cualquier inconveniente producido, derivado de la calidad de las especialidades y/o productos médicos intervinientes en una mezcla o reconstitución de medicamentos, el farmacéutico deberá poder rastrear hacia atrás los elementos y condiciones que intervinieron durante todos los procesos hasta llegar al producto final. De esta manera las formulaciones magistrales serán perfectamente trazables.

3.4.-DETERMINACIÓN DE RIESGO EN LAS PREPARACIONES MAGISTRALES ESTÉRILES (PME)

Antes de realizar una preparación de un medicamento por primera vez, el servicio de farmacia debe llevar a cabo una evaluación apropiada de los riesgos asociados con el fin de determinar el nivel del sistema de calidad que debe aplicarse. Los criterios de decisión para la evaluación de los riesgos se han agrupado en 6 categorías, teniendo en cuenta la matriz de riesgo para preparaciones estériles de la guía de buenas prácticas de preparación de medicamentos en servicios de farmacia hospitalaria:²²

1. El proceso de la preparación.
2. La vía de administración de la preparación.
3. El perfil de seguridad del medicamento.
4. La cantidad de unidades preparadas.
5. La distribución de la preparación.

6. La susceptibilidad de contaminación microbiológica.

A cada criterio de decisión le corresponde un factor alfabético de graduación del riesgo que va desde la “A” a la “D” siendo éste el valor de mayor riesgo, reservado para aquellas preparaciones en las que la posibilidad de que se produzca una contaminación es alta y/o las consecuencias de un posible error de preparación pueden ser graves para el paciente. Si para una preparación existen varias posibilidades dentro de una misma categoría, se debe elegir siempre la de mayor riesgo. La combinación de los resultados lleva a tres posibles niveles de riesgo (alto, medio y bajo). Según el nivel de riesgo obtenido se establecen las condiciones de la zona de preparación y los plazos de validez de la preparación y sus condiciones de conservación).

A continuación se muestran los detalles a tener en cuenta en cada categoría, para la clasificación de las PME según cada categoría:

| Proceso de preparación | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Mezclas de más de 3 medicamentos diferentes. • Preparaciones que requieran más de 3 pinchazos en el contenedor final. • Mezclas que requieran filtros u otros dispositivos especiales durante su preparación/administración • Preparaciones que requieran cálculos complejos para determinar la dosis y concentración que impliquen conversión de unidades (mg-mmol, mg-%). Se incluyen las mezclas individualizadas que requieran cálculos para determinar dosis en el paciente (mg/m², dosis/kg, AUC, mcg/Kg/h) • Procesos en los que se forma espuma, o existe riesgo de inestabilidad fisicoquímica (luz, O₂), precipitación, turbidez, degradación pH-dependiente, solubilización dificultosa o lenta, coloraciones, separación de fases. • Reconstitución-dilución unitaria dificultosa que dura más de 20 minutos. | C |
| <ul style="list-style-type: none"> • Mezclas de 3 medicamentos diferentes. • Preparaciones que requieran 3 pinchazos en el contenedor final. • Mezclas a partir de medicamentos liofilizados y concentrados que requieren cálculos para conocer la concentración tras reconstitución y volumen a dosificar del vial o la ampolla (fracciones de dosis en liofilizados y concentrados). • Preparados sensibles a la luz o temperatura. • Reconstitución-dilución unitaria dificultosa que dura 10-20 minutos. | B |
| <ul style="list-style-type: none"> • Mezclas de 2 medicamentos diferentes. • Preparaciones que requieran 1 ó 2 pinchazos en el contenedor final. • Mezclas que no requieren cálculos para su preparación. • Reconstitución y dilución de viales en solución, concentrados y liofilizados completos o fracciones de dosis sencillas a partir de inyectables en solución con concentración conocida. • Reconstitución-dilución unitaria dificultosa que dura menos de 10 minutos. | A |

| Vía de administración de la preparación | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Intratecal. | D |
| <ul style="list-style-type: none"> • Intraocular (intravítrea, intracameral), intravenosa central, epidural. | C |
| <ul style="list-style-type: none"> • Intravenosa periférica, intramuscular, subcutánea, intradérmica, intrapleural, intralesional, intraperitoneal, intraarticular, inhalada, nebulizada. | B |
| <ul style="list-style-type: none"> • Oftálmica tópica, ótica tópica, intravesical, oral, rectal, tópica. | A |

| Perfil de seguridad del medicamento | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Potencialmente letales en caso de sobredosis. • Vesicantes, irritantes, corrosivos, con potencial mutagénico, carcinogénico o infeccioso. | C |
| <ul style="list-style-type: none"> • Estrecho margen terapéutico. • Alta incidencia de reacciones adversas relacionadas con la administración. • Medicamentos de ensayo clínico o de especial control médico (opiáceos). | B |
| <ul style="list-style-type: none"> • Demás (sin potencial tóxico, amplio margen terapéutico y baja incidencia de reacciones adversas relacionadas con la administración) | A |

| Cantidad de unidades preparadas | |
|---------------------------------|---|
| • Más de 25 unidades/lote | C |
| • Entre 25 y 3 unidades/lote | B |
| • 1 ó 2 unidades | A |

| Susceptibilidad contaminación microbiológica | |
|--|---|
| • Transferencia de productos mediante sistemas abiertos. • Elaboración a partir de productos no estériles, contenedores o sistemas de transferencia no estériles y que requieren esterilización terminal al final de la mezcla. | D |
| • Sustancias altamente susceptibles de contaminación microbiológica que se administran en infusión más de 8h. • Preparación de colirio sin conservantes en envases estériles a través del orificio del gotero (no se considera abierto). | C |
| • Sustancias altamente susceptibles de contaminación microbiológica para administrar en menos de 8 horas. • Preparaciones cuya duración de administración es superior a 24 horas (bombas controladas por el paciente, infusores elastoméricos). • Preparación de colirios con conservantes en envases estériles a través del orificio del gotero (no se considera sistema de transferencia abierto). | B |
| • Transferencia simple del medicamento en sistemas cerrados (viales con elastómeros sellados, ampollas de vidrio y plástico de un solo uso, sueros con punto de adición cerrado). • Preparaciones de bajo riesgo de contaminación para ser administradas en menos de 1 hora desde la preparación. • Preparaciones cuya duración de administración es inferior a 24 horas. | A |

| Distribución de la preparación | |
|--|---|
| • Uso exclusivo para otros hospitales. | C |
| • Uso combinado (para el hospital que lo prepara y para otros hospitales). | B |
| • Uso exclusivo para el hospital que lo prepara. | A |

Las letras asignadas como A, B o C nos indicarán el nivel de riesgo del producto que vayamos a preparar y sus características particulares de preparación y almacenamiento, según la tabla 4:

Tabla 4. Nivel de riesgo y requisitos de la preparación / conservación

| Nivel de riesgo | Requisitos de preparación | Requisitos de conservación ⁽¹⁾ |
|--|--|---|
| Si el conjunto de letras contiene al menos una D, la preparación se considera una preparación de riesgo alto | Servicio de farmacia. Preparación bajo cabina de flujo laminar con entorno controlado (sala blanca) | <ul style="list-style-type: none"> • 24 horas / temperatura ambiente • 3 días / frigorífico (2 °C – 8 °C) • 45 días / congelador (≤ -20 °C) • 90 días / liofilizado |
| Si el conjunto de letras contiene al menos una C o tres o más B (y no contiene ninguna D), se considera una preparación de riesgo medio . | Servicio de farmacia. Preparación bajo cabina de flujo laminar con entorno controlado (sala blanca) | <ul style="list-style-type: none"> • 30 horas / temperatura ambiente • 9 días / frigorífico (2 °C – 8 °C) • 45 días en congelador (≤ -20 °C) • 90 días liofilizado |
| Si el conjunto de letras contiene menos de tres B (ninguna C ni D) se considera una preparación de riesgo bajo . | Servicio de farmacia. Preparación bajo cabina de flujo laminar con entorno controlado (sala blanca) | <ul style="list-style-type: none"> • 48 horas / temperatura ambiente • 14 días / frigorífico (2 °C – 8 °C) • 45 días / congelador (≤ -20 °C) • 90 días liofilizado |
| | Servicio de farmacia. Preparación bajo cabina de flujo laminar sin ambiente controlado. | <ul style="list-style-type: none"> • 12 horas / temperatura ambiente • 24 horas / frigorífico (2 °C – 8 °C) • 7 días / congelador (≤ -20 °C) |
| | Unidad de enfermería en planta, sin ambiente controlado. | <ul style="list-style-type: none"> • 1 hora / temperatura ambiente, • 1 hora / frigorífico (2 °C – 8 °C) • No congelar |

De acuerdo a lo especificado los Colirios antibióticos reforzados, quedarían definidos como se muestra en la tabla 5:

Tabla 5. Colirios antibióticos reforzados según el nivel de riesgo

| Colirios antibióticos reforzados | |
|---|---|
| Criterios de decisión | |
| Proceso de preparación: elaborados mediante manipulación aséptica, en un ambiente con calidad de controlado, utilizando ingredientes y dispositivos estériles. | A |
| Vía de administración: oftálmica tópica. | A |
| Perfil de seguridad del medicamento: ingredientes seguros durante el periodo de administración | A |
| La cantidad de unidades preparadas: lotes pequeños 1 o 2 unidades. | A |
| La distribución de la preparación: preparado para un paciente en particular. | B |
| La susceptibilidad de contaminación microbiológica: las manipulaciones se limitan a la apertura aséptica de ampollas, perforación de taponetes estériles de viales con agujas y jeringas estériles, la transferencia de líquidos estériles a envases estériles. | A |

Según lo observado en la tabla 5, los CAR son considerados preparaciones magistrales estériles de bajo riesgo y de acuerdo a las condiciones de fabricación se les asignará el periodo de caducidad correspondiente.

Recordamos que ésta clasificación se realiza teniendo en cuenta la matriz de riesgo para preparaciones magistrales estériles de la Guía de buenas prácticas de preparación de medicamentos en servicios de farmacia hospitalaria.²²

3.5.- MÉTODO DE PREPARACIÓN DE PREPARADOS MAGISTRALES ESTÉRILES ANTIBIÓTICOS REFORZADOS

3.5.a.- Introducción

En función de los antecedentes que hemos mencionado podemos decir con certeza que la formulación magistral constituye una actividad muy importante dentro del trabajo diario de un farmacéutico y para la cual éste debe estar capacitado y tener perfecto manejo de la legislación y reglamentación vigentes, como también de la bibliografía específica y técnicas inherentes a cada formulación particular.

Una vez que se produce la recepción de la receta magistral, en la que se detalla nombre del paciente, fórmula, forma farmacéutica y cantidad a preparar, se diseña y desarrolla la formulación, teniendo en cuenta los cálculos y ajustes de los principios activos y excipientes dependiendo de la forma farmacéutica.

Para cada formulación se redacta una planilla de elaboración que incluye fecha, temperatura, forma farmacéutica, cantidad a preparar, número de lote, componentes con su número de lote y vencimiento, hora de inicio y finalización del trabajo, controles de calidad y toda observación que resulte oportuna, de manera que el producto final sea trazable.

Al producto terminado se le realizan los controles de calidad, envasado y rotulado, se asienta en el libro recetario con el número correspondiente y posteriormente se dispensa al paciente con la información adicional que necesite para el correcto tratamiento.

A continuación presentamos un esquema del circuito de trabajo. Figura 10.



Figura 10. Circuito de trabajo en la Preparaciones magistrales

3.5.b.- Formulaciones magistrales estériles.

Las formulaciones magistrales estériles, como cualquier tipo de preparado estéril, deben ser realizadas en salas especialmente acondicionadas en cuanto al tipo de materiales utilizados en su construcción y calidad del aire. El personal a cargo de estas

operaciones debe estar capacitado en el manejo de técnicas asépticas, vestimenta y demás cuestiones que sean pertinentes para asegurar la calidad del producto final, como nos hemos referido con más detalle en este capítulo.

Como ya lo habíamos comentado en la introducción y los objetivos planteados, el desarrollo de esta investigación se basa en la comparación de los resultados de muestras de PME antibióticos reforzados de Vancomicina y Amikacina obtenidos en condiciones de trabajo diferentes, con el propósito de evaluar la factibilidad de producir formulaciones magistrales estériles en farmacias comunitarias o en centros de atención que no cuenten con salas especiales, ni mucho menos con cabina de flujo laminar. Las condiciones planteadas para el proyecto fueron: el Departamento de Ciencias Farmacéuticas (Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba), que cuenta con la infraestructura necesaria y situación ideal para ser un parámetro de control en el estudio y el laboratorio de Farmacia Vilarrubi, que no cuenta con cabina de flujo laminar.

3.5.b1.- Departamento de Ciencias Farmacéuticas. Facultad de Ciencias Químicas. UNC

El Departamento de Ciencias Farmacéuticas posee una dependencia especialmente acondicionada para la elaboración o manipulación de sustancias, que por sus características, requieren condiciones de asepsia durante la manipulación.

Está dividida en dos salas, una más expuesta, por la que ingresa el operador con el material de trabajo y contigua a ésta se accede a la sala limpia en donde se encuentra la cabina de flujo laminar horizontal Labconco Clase II. Figura 11.

Todo el material necesario para la producción de las muestras ingresa a la sala B en la bandeja correspondiente. En este momento el operador se coloca bata estéril, guantes estériles, cofia y pasa a la Sala A. El operador deposita la bandeja en el soporte y procede a encender la cabina según **POE 001**. Ver ANEXO I.

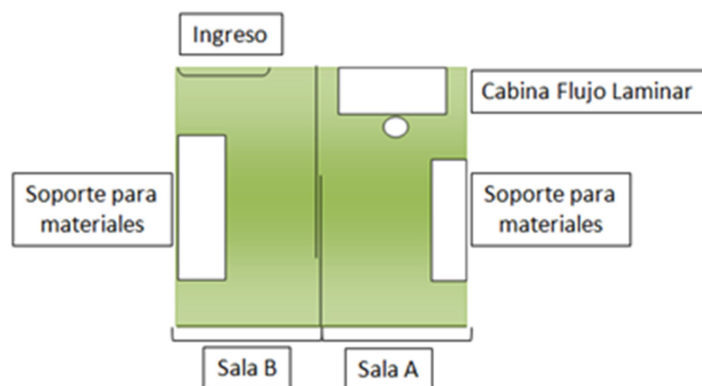


Figura 11. Dep. Cs. Farm. UNC. Sala limpia (Sala A) y entorno para la zona de grado A en el caso de preparación y llenado aséptico (Sala B)

3.5.b2.- Laboratorio de Farmacia Vilarrubi

El laboratorio de una farmacia debe cumplir con los requisitos que exige la ley provincial 8302, y su decreto reglamentario 175/94 , la cual establece que debe contar con una superficie mínima de 8 m², agua corriente y mesada de acero inoxidable. Dentro del mismo deben estar diferenciadas las áreas de proceso, depósito y de envasado y rotulado. El laboratorio de Farmacia Vilarrubi cuenta con las dimensiones mínimas exigidas, pero la disposición del instrumental y mobiliario permiten que el trabajo se realice de manera fluida y práctica. Figura 12.

Para el trabajo en estas condiciones, se procedió a sanitizar el laboratorio por la tarde, según **POE: Sanitización de ambiente y limpieza general**. Código: PN/L/PG/007/00, ANEXO I. El trabajo fue realizado en un ambiente de temperatura controlada a 25 °C con termómetro ambiental autorizado por la autoridad sanitaria.

La preparación de las muestras se realizó en horario nocturno, 21 hs. procurando un entorno tranquilo fuera de la jornada de atención al público, con esto se intentó minimizar la circulación de aire y de personal.

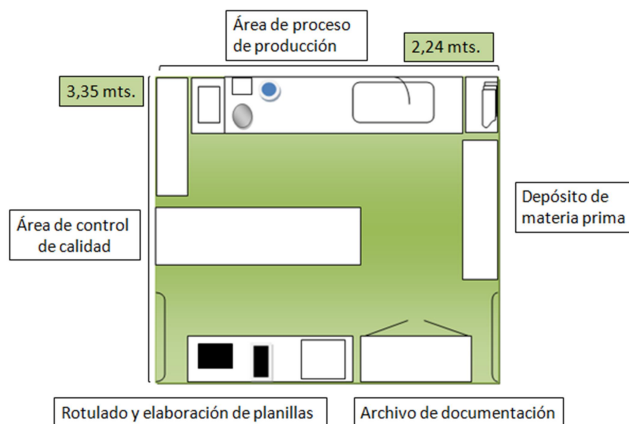


Figura 12. Laboratorio Farmacia Vilarrubi. Disposición del mobiliario y diferenciación de zonas

3.5.c.-Colirios Antibióticos reforzados- Procedimientos de elaboración

3.5.c.1.- Departamento de Ciencias Farmacéuticas. Facultad de Ciencias Químicas. UNC

Se prepararon antibióticos reforzados de Vnc, Amk y Vnc-Amk 30 mg/mL cada uno en un volumen final de 10 mL. El procedimiento fue realizado en campana de flujo laminar, en las instalaciones del Departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Facultad de Ciencias Químicas, UNC, según el instructivo de trabajo “**Procedimiento operativo de elaboración colirio antibiótico reforzado de Vancomicina-Amikacina**” POE 003 (ANEXO I. Procedimientos). El frasco gotero se acondicionó según procedimiento operativo estándar “**Procedimiento operativo de acondicionamiento del frasco con inserto gotero**” POE 002 (ANEXO I. Procedimientos).

Para la producción de las muestras, primeramente se elaboró el vehículo (ANEXO I. Materiales), que fue esterilizado por calor húmedo en autoclave.

Las muestras fueron almacenadas en frasco gotero y conservadas en heladera entre 2 y 8 °C, se elaboraron reconstituyendo un vial de Vnc con 10 mL de buffer pH6, se tomaron 6 mL de esta solución y luego se introdujo esta misma jeringa en la ampolla de Amk, tomando 1,2 mL. Por último se tomó la solución de NaCl y se llevó a un volumen final de 10 mL con buffer pH 6. Según figura 13.



Figura 13. Preparación de las muestras en Dep. Cs. Farm. UNC.

3.5.b2.-Laboratorio de Farmacia Vilarrubi



Figura 14. Preparación de las muestras en el Laboratorio de Farmacia Vilarrubi

Para comenzar se desinfectó la mesada con alcohol 70°, se colocó y encendió el mechero. El mechero fue el instrumento que aportó un área segura para trabajar, ya que en la zona cercana a su llama hay un halo de esterilidad.

El operador se colocó cofia, guantes y bata estéril, el material necesario para la producción se ubicó en el área de control de calidad, soporte cercano al área de

producción, desde allí fueron rociados con etanol 70° y trasladados a la mesada de trabajo.

Con los materiales sobre la mesada y lo más cerca posible del mechero, comenzó la elaboración de las muestras, según **POE 004: Procedimiento Preparación de colirio antibiótico reforzado en Laboratorio de Farmacia** (ANEXO I. Procedimientos), para trabajar más cerca de la llama se colocó un soporte que eleva el material, asegurando el área estéril. Figura 14.

Se prepararon antibióticos reforzados de Vnc, Amk y Vnc-Amk 30 mg/mL cada uno en un volumen final de 10 mL.

El frasco gotero se acondicionó según procedimiento operativo estándar **“Procedimiento operativo de acondicionamiento del frasco con inserto gotero” POE 002.** (ANEXO I. Procedimientos)

Para la producción de las muestras, previamente se elaboró el vehículo, fue esterilizado por calor húmedo en autoclave a 121 °C durante 15 minutos, en el Departamento de Ciencias Farmacéuticas (UNC).

Las muestras fueron almacenadas en frasco gotero y conservadas en heladera entre 2 y 8 °C y se elaboraron reconstituyendo un vial de Vnc con 10 mL de buffer pH6, se tomaron 6 mL de esta solución y luego se introdujo esta misma jeringa en la ampolla de Amk, tomando 1,2 mL. Por último se introdujo una solución de NaCl y se llevó a un volumen final de 10 mL con buffer pH 6.

4.- CONCLUSIONES

De acuerdo a lo comentado en el presente capítulo podemos decir:

- ✓ Luego de un minucioso análisis del riesgo podemos afirmar que los colirios antibióticos reforzados al ser soluciones que provienen de la mezcla de sustancias estériles, fraccionadas mediante dispositivos estériles y esterilizadas finalmente a través de filtros también estériles el riesgo de contaminación durante su elaboración es bajo.

- ✓ Con respecto a la legislación vigente a nivel nacional e internacional referido a preparaciones estériles está enfocada a escala industrial, en lo que abarca al equipamiento, requerimientos edilicios y controles en la calidad del aire. Podemos afirmar que una farmacia comunitaria o institucional difícilmente puedan cumplir con estas exigencias en la coyuntura actual. Creemos que los procedimientos operativos de elaboración definidos claramente y la capacitación del personal compensan las falencias edilicias y ambientales.
- ✓ Se desarrollaron procedimientos operativos estándar para la elaboración a pequeña escala de preparados magistrales estériles en 2 condiciones de trabajo, los que fueron diseñados teniendo en cuenta las directrices de las buenas prácticas de fabricación y aplicando rigurosamente la técnica aséptica.
- ✓ No se encuentran documentados en ningún texto de referencia y que a futuro podrían ser propuestos para ser incluidos en el *Formulario Provincial de Productos Sanitarios Oficiales Normalizados*.
- ✓ Se obtuvieron colirios antibióticos reforzados de Vnc, Amk y Vnc-Amk aplicando los procedimientos de elaboración desarrollados.
- ✓ Cuando se trabaja en condiciones de elaboración austeras, es extremadamente importante el compromiso, la capacitación, la actitud y comportamiento del operador, porque de eso casi exclusivamente depende el éxito de la gestión.

ANEXO I

MATERIALES

1.1.-Ingredientes farmacéuticos activos

Vancomicina Clorhidrato: Vancomicina Klonal® 500 mg polvo liofilizado (Lote: K9814/1, Vencimiento: 10/19).

Amikacina Sulfato: Amikacina Sulfato Larjan® 500 mg ampolla de 2 mL (Lote: P13713, Vencimiento: 12/19).

1.2.-Vehículo

Solución amortiguadora o reguladora pH 6:

Disolver 27,22 g de fosfato monobásico de potasio Parafarm® (KH_2PO_4) en agua y diluir con agua a 1 litro. Transferir 50 mL de la solución de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 200 mL, agregar 5,6 mL de la solución de hidróxido de sodio y completar a volumen con agua destilada.²³ (Lote: VIL-171211), luego llevar a esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Solución reguladora de la osmolaridad:

Cloruro de sodio: se disolvieron 2 g de cloruro de sodio en 10 mL de agua destilada, se llevó a esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

1.3.-Material de acondicionamiento

- Envase: Polietileno Alta Densidad (PEDH)
- Tapa: Polipropileno
- Inserto: Polietileno Baja Densidad

Medidas:

- Capacidad: 60 cc

1.4.- Filtro estéril para jeringa: Tamaño de poro 0,22 μm .

PROCEDIMIENTOS

Procedimiento de Sanitización de ambientes

| PROCEDIMIENTO GENERAL | |
|-------------------------------|-----------------------------|
| Código: PN/L/PG/007/00 | Página 1 de 7 |
| Sustituye a: | Fecha de aprobación: |

SANITIZACIÓN DE AMBIENTE Y LIMPIEZA DEL MATERIAL

ÍNDICE:

1. Objetivo
2. Responsabilidad de aplicación y alcance
3. Definiciones
4. Descripción
5. Registros
6. Control de cambios
7. Anexos

Anexo I – Control de copias

Anexo II – Registro de limpieza

| <i>Redactado por:</i> | <i>Revisado por:</i> | <i>Aprobado por:</i> |
|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | |
| | | |
| | | |

Objetivo: Describir las directrices generales de limpieza de la zona o local de preparación y del material para eliminar correctamente los posibles restos de producto y, así, evitar contaminaciones cruzadas garantizando la adecuada limpieza.

Responsabilidad de aplicación y alcance: La responsabilidad de aplicación y alcance de este procedimiento recae en todo el personal que se encargue de la limpieza de los equipos de trabajo, así como del utillaje de laboratorio, y el propio local.

Definiciones

Contaminación cruzada: contaminación de una materia prima o de un producto con otra materia prima o producto.

Local de preparación: zona reservada a las operaciones de elaboración y control.

Descripción

La limpieza del material se realizará en función del tipo de material a limpiar y se llevará a cabo siguiendo los siguientes patrones:

Limpieza de la balanza de precisión: Después de cada preparación se mantendrá la balanza limpia de materiales extraños, para ello se debe desenchufar de la corriente eléctrica y posteriormente limpiar empleando un paño suave ligeramente húmedo en agua jabonosa o alcohol 70°, sin detergentes abrasivos, evitando los movimientos bruscos y sin ejercer demasiada presión sobre el plato evitando así que se desestabilice.

No se debe utilizar aire comprimido para limpiar la balanza, porque podría introducir cuerpos extraños en las partes mecánicas causando problemas en las mismas. (Se puede emplear un pincel para eliminar los restos de materias pesadas, teniendo cuidado de no arrastrarlos dentro de la maquinaria de la balanza).

Limpieza del pequeño utillaje: probetas, vasos de precipitados, espátulas, etc.

Los utensilios pendientes de limpieza se colocarán en una zona diferenciada. La limpieza se efectuará lo más rápidamente posible después de su utilización, para evitar las posibles contaminaciones cruzadas.

El material se lavará convenientemente con el agua caliente de la red y un detergente biodegradable.

Se aclarará bien el material y, una vez limpio se enjuagará con agua. El material limpio y seco se ubicará en su armario correspondiente.

Los utensilios de limpieza que se emplean serán exclusivos para el laboratorio.

Previo a ser utilizado para la elaboración de un producto sanitario todo material deberá ser desinfectado haciendo correr por su superficie una película de alcohol etílico de 70 °GL (a 100 mL de alcohol etílico uso medicinal de 96 °GL agregar 40,8 mL de agua destilada).

Limpieza del baño de agua: Una vez desconectado de la red y frío, se vaciará el baño y se procederá a su limpieza con un paño humedecido con agua.

Limpieza del local: Efectuar una limpieza en todas las superficies, especialmente en las mesadas de trabajo, utilizando una emulsión tensioactiva diluida en agua corriente. Posteriormente enjuagar con agua corriente utilizando esponja o paño limpio. Proceder luego a la desinfección con solución de hipoclorito de sodio al 0,5 % m/v de cloro activo (partiendo de una solución comercial de hipoclorito de sodio de 55 g/L de cloro activo, tomar 91 mL de la misma y llevar a volumen final de 1000 mL con agua corriente. Esta solución permanece activa alrededor de 72 hs., conservada en lugar fresco y al abrigo de la luz). Este procedimiento deberá efectuarse al menos una vez cada 15 días. No obstante, finalizado cada proceso de elaboración, deberá limpiarse y desinfectarse las mesadas de trabajo. Se realizará el registro de esta actividad (ver anexo II).

Limpieza del material específico: La limpieza se realizará inmediatamente después de su empleo. Se procederá a desmontar el aparato correspondiente. Posteriormente se limpiará con agua caliente jabonosa con detergente biodegradable y aclarar con agua bien. Enjuagar con agua purificada, si procede.

Se seguirán las instrucciones precisas, indicadas por el fabricante, según el tipo de material: homogeneizadores, encapsuladores, agitadores magnéticos, etc.

Registros.

Registro de limpieza y sanitización de ambiente

| Fecha de Limpieza | Aprobado (SI/NO) | Observaciones | Firma Operador | Firma Dirección Técnica |
|-------------------|------------------|---------------|----------------|-------------------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

POE 001- Procedimiento de uso de Cabina de Flujo laminar

Objeto: Trabajar correctamente en la cabina de flujo laminar.

Alcance: Farmacéutico elaborador o auxiliar.

Desarrollo:

Antes de comenzar a utilizar la cabina desinfectar con alcohol 70° todo el material que vaya a ser ingresado a la misma y encender la lámpara UV por 20-30 minutos.

Apagar la lámpara UV y encender la lámpara fluorescente. Asegurarse que ninguna rejilla esté obstruida. Encender el flujo (botón blower en ON) y esperar 15 minutos.

Limpieza: Limpiar las superficies interiores con etanol 70°.

Técnica de trabajo:

Mantener todos los materiales por lo menos a 10 centímetros del borde.

Separar los materiales limpios y contaminados en el área de trabajo.

El trabajo se debe programar de áreas limpias a áreas contaminadas, usando técnicas asépticas.

Mantener y utilizar materiales contaminados en la parte posterior del área de trabajo.

Purga final y limpieza

Permita que el gabinete funcione 2-3 minutos antes de descargar.

Limpie la superficie interior del gabinete con etanol 70°

Apagado

Apague la luz fluorescente y el flujo (botón blower en OFF).

Encienda la luz UV deje actuar 20-30 minutos.

Registrarse en la planilla destinada para tal fin.

PRECAUCION: Evitar la exposición directa de piel y ojos a la luz UV.

NOTA: En caso de derrame de sustancias infecciosas descontaminar con solución de hipoclorito (5% de cloro activo) 20 mL de solución de hipoclorito + 980 mL de agua.

Luego limpiar con agua para eliminar el hipoclorito porque resulta corrosivo para las superficies de la cabina.

NO USAR TÓXICOS, EXPLOSIVOS O SUSTANCIAS INFLAMABLES EN ESTA CABINA

POE 002- Procedimiento de Acondicionamiento de frasco gotero

Objeto: Correcto acondicionamiento del frasco con inserto gotero para prevenir errores de contaminación y asegurar la reproducibilidad de la calidad unidad por unidad.

Alcance: Farmacéutico elaborador o auxiliar.

Desarrollo:

- 1) Lavar con agua destilada.
- 2) Rociar el frasco con alcohol 70° en su interior tratando de que el alcohol moje toda la superficie.
- 3) Llevar a estufa: 40 °C x 45 minutos.
- 4) Retirar de la estufa y tapar.
- 5) Llevar cerrado y tapado a la campana de flujo laminar o a la zona estéril del mechero y proceder según corresponda en cada caso. POE 003 o POE 004.

POE 003- Procedimiento Preparación de colirio antibiótico reforzado en UNC

Objeto: Preparación de un Colirio Antibiótico Reforzado (CAR) de Vancomicina y Amikacina a partir de especialidades medicinales y bajo normas de Farmacopea VII Ed. y de Buenas Prácticas de Elaboración (BPE).

Alcance: Farmacéutico elaborador o auxiliar.

Desarrollo:

MATERIALES:

- ✓ Vancomicina 500 mg frasco ampolla.
- ✓ Amikacina 500 mg ampolla.
- ✓ Buffer fosfato pH 6.
- ✓ Solución de NaCl (32 mg de NaCl disueltos en la mínima cantidad de buffer posible).
- ✓ Jeringa 10 mL.
- ✓ Aguja 40/8.
- ✓ Aguja 13/4.
- ✓ Rociador con alcohol 70°.
- ✓ Frasco gotero con inserto previamente acondicionado (según POE 002).
- ✓ Filtro 0,22 µm.

PROCEDIMIENTO: para preparar 10 mL del CAR

- 1) Colocar el material a utilizar en una mesada contigua a la campana de flujo laminar.
- 2) Encender el flujo de aire de la campana hasta q éste se estabilice.
- 3) Prender la luz UV y retirarse de la sala por 15 minutos.
- 4) Ingresar a la sala, apagar la luz UV.
- 5) Limpiar el interior de la campana con alcohol 70°.
- 6) Colocarse doble guante y rociarlos con alcohol 70°.

- 7) Rocíar con alcohol 70° los materiales necesarios de a uno y e introducirlos a la cabina.
- 8) Cargar en la jeringa 10 mL de buffer pH 6.
- 9) Introducir el volumen de buffer a través del tapón de goma, con aguja 40/8 en el frasco de Vancomicina.
- 10) Dejar la aguja con la jeringa montada en el tapón.
- 11) Mover suavemente el frasco para que la Vancomicina se disuelva sin hacer espuma.
- 12) Tomar 6 mL.
- 13) Retirar la jeringa.
- 14) Introducir esta misma jeringa en la ampolla de Amikacina y tomar 1,2 mL.
- 15) Tomar la solución de NaCl.
- 16) Completar a volumen final 10 mL con buffer pH 6.
- 17) Retirar la aguja e insertar el filtro esterilizante en su lugar.
- 18) Colocar en el otro extremo del filtro la aguja 13/4.
- 19) Introducir la guja 13/4 suavemente en el inserto del frasco gotero para evitar que se agrande el orificio.
- 20) Ejercer presión sobre el émbolo de la jeringa para que el preparado pase lentamente a través del filtro y quede en el frasco gotero.
- 21) Retirar la aguja y se colocar la tapa al frasco.

Importante: siempre la manipulación se realiza evitando movimientos bruscos y anteponiendo el material al flujo de aire laminar para minimizar turbulencias.

Documentos asociados:

POE 002: Acondicionamiento de frasco gotero.

POE 001: Procedimiento de uso cabina de flujo laminar.

POE 004-Procedimiento Preparación de colirio antibiótico reforzado en Laboratorio de Farmacia

Objeto: Preparación de un Colirio Antibiótico Reforzado (CAR) de Vancomicina y Amikacina a partir de especialidades medicinales y bajo normas de Farmacopea VII Ed. y de Buenas Prácticas de Elaboración (BPE).

Alcance: Farmacéutico elaborador o auxiliar.

Desarrollo:

MATERIALES:

- ✓ Vancomicina 500 mg frasco ampolla.
- ✓ Amikacina 500 mg ampolla.
- ✓ Buffer fosfato pH 6.
- ✓ Solución de NaCl (32 mg de NaCl disueltos en la mínima cantidad de buffer posible).
- ✓ Jeringa 10 mL.
- ✓ Aguja 40/8.
- ✓ Aguja 13/4.
- ✓ Rociador con alcohol 70°.
- ✓ Frasco gotero con inserto previamente acondicionado (según POE 002).
- ✓ Filtro 0,22 µm.
- ✓ Mechero.
- ✓ Guantes de látex.

PROCEDIMIENTO: para preparar 10mL del CAR

- 1) Colocar todo el material a utilizar en una mesada contigua a la mesada de trabajo.
- 2) Encender el Mechero.
- 3) Lavarse las manos
- 4) Rociar con alcohol 70° cada material a utilizar y luego trasladarlo a la zona del mechero.

- 5) Colocarse doble guante y rociarlos con alcohol 70°.
- 6) Comenzar a trabajar lo más cerca posible de la llama del mechero.
- 7) Cargar en la jeringa 10 mL de buffer pH 6.
- 8) Introducir el volumen de buffer a través del tapón de goma, con aguja 40/8 en el frasco de Vancomicina.
- 9) Dejar la aguja con la jeringa montada en el tapón.
- 10) Mover suavemente el frasco para que la Vancomicina se disuelva sin hacer espuma.
- 11) Tomar 6 mL.
- 12) Retirar la jeringa.
- 13) Introducir esta misma jeringa en la ampolla de amikacina y tomar 1,2 mL.
- 14) Tomar la solución de NaCl.
- 15) Completar a volumen final 10 mL con buffer pH 6.
- 16) Retirar la aguja e insertar el filtro esterilizante en su lugar.
- 17) Colocar en el otro extremo del filtro la aguja 13/4.
- 18) Introducir la guja 13/4 suavemente en el inserto del frasco gotero para evitar que se agrande el orificio.
- 19) Ejercer presión sobre el émbolo de la jeringa para que el preparado pase lentamente a través del filtro y quede en el frasco gotero.
- 20) Retirar la aguja y se colocar la tapa al frasco.

Importante: se debe trabajar lo más cerca posible de la llama del mechero para aprovechar el halo de esterilidad.

Documentos asociados:

POE 002: Acondicionamiento de frasco gotero.

PLANILLA DE ELABORACIÓN

FECHA: ___ / ___ / _____

Cantidad a preparar:

LOTE: _____

Nº Libro Recetario:

Temperatura: ___ °C

Aseo de mesada: si/no

Fórmula:

Hora de inicio: ___ : ___

Forma Farmacéutica:

Pesada de materias primas:

| Insumo | Nº Lote | Fórmula teórica | Cantidad Práctica (g)-V(mL) |
|--------|---------|-----------------|-----------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Modo de Elaboración según fórmula Nº:

Observaciones (que salgan fuera de protocolo):

Envasado:

Hora de finalización: ___ : ___

Día de Finalización: ___ / ___ / _____

Firma Dirección Técnica

Planilla de elaboración del CAR en el Laboratorio de Farmacia Vilarrubi

PARÁMETROS DE CALIDAD:

Temperatura: 25 °C
 Características de calidad: Medicamento control visual, se observa una solución transparente y sin presencia de partículas.

FECHA: 13/12/17
 LOTE: VIL-171213


Fórmula: Vancomicina 30 mg, Amikacina 30 mg
 Cantidad a preparar: 10 ml.
 Nro Libro Recetario: ----
 Hora de inicio: 13:30 hs.
 Hora de finalización: 21:30 hs.


Peso de materias primas:

| Nombre | Nro Lote | Minimas Máximas | Cantidad a pesar (g) |
|---|----------------------|--------------------|-------------------------|
| Vancomicina Clorhidrato Kional® 500 mg | K9814/1 Vto 13/19 | 300 mg | 0,300 g |
| Amikacina Sulfato Leryan® 500 mg | Vto 12/19 | 300 mg/1,2 ml | 1,2 ml |
| ClNa | VIL-171211 | 0,15 ml | 0,15 ml |
| Buffer Fosfato pH 6 | | 0,15 ml | 0,15 ml |
| | | 0,15 ml | 0,15 ml |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Modo de Elaboración según fórmula Nro: POE 004
Observaciones (que salgan fuera de protocolo): -----

Emvasado: En frasco con inserto estero de 60 ml. Acondicionado según POE 002.
 Hora de finalización: 21:00 hs.
 Día de finalización: 13/12/17


 Farm. Silvina M. Vilarrubi
 M.P.: 5161
 Firma Control de Calidad


 Farm. Silvina M. Vilarrubi
 M.P.: 5161
 Firma Dirección Técnica

5. - REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS CAPÍTULO II

1. Santos Ramos B, Guerrero Aznar MD. Administración de medicamentos. Teoría y Práctica. Ed. Díaz de Santos. Madrid, 1994.
2. Arntz Bustos, A Duran de la Colina, JA. Anatomía Funcional de la Superficie Ocular. Ed. Sociedad Española Oftalmología. 2004. LXXX Ponencia Oficial.
3. Ohashi Y, Motokura M, Kinoshita Y. Presence of epidermal growth factor in human tears. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1989; vol.30: 1.879- 1.882.
4. Niederkorn J Y. The immune privilege of corneal grafts. J Leukoc Biol. 2003; vol. 74: 167-71.
5. Kaufman P L, Alm A. Adler fisiología del ojo. Aplicación clínica. Décima Edición. Ed. Elsevier. Madrid. 2004.
6. Forrester D, Mc Menamin L. The Eye. Basic Sciences in Practice. 2nd ed. London: Harcourt Publisher Lim. 2002.
7. Merayo L Loves J, Torres R. Berra A. Estudios de laboratorio en Superficie Ocular. Ed. Sociedad Española Oftalmología. 2004. LXXX Ponencia Oficial
8. Dilly PN. Contribution of the epithelium to the stability of the tear film. Trans Ophthalmol Soc U.K. 1985; vol.104: 381-389.
9. Benítez del Castillo JM, Coulangeon LM, Van Best JA. Measurement of basal tear turnover using a standarized protocol. European concerted action on ocular fluorometry. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol. 1995; vol.233: 1-7.
10. Gibson M. Pharmaceutical Preformulation and Formulation. A practical guide from candidate drug selection to comercial dosage form HIS Health Group, Englewood, CO. 2001.
11. Garg A. Fisiopatología de la película lagrimal. Ojo Seco y Otros Trastornos de la Superficie Ocular. 1ª edición. India: Editorial Panamericana. 2008: 1-28.
12. García B, De Juana P, Hidalgo F, Bermejo T. Oftalmología. En Farm. Hospitalaria. Tomo II. 2002: 1229-1230
13. Fauli I, Trillo C, Tratado de Farmacia Galénica 1ª edición. Madrid: Editorial Luzán 5. S.A. de Ediciones. 1993.
14. González Sotero J, Rojas Álvarez E, Correa Rojas O, Iviricu Tielves R. Resistencia antimicrobiana en oftalmología. Revista Mexicana de Oftalmología. 2011; vol. 85, N°3: 148-155.

15. Dirección de jurisdicción de farmacias. Ministerio de salud de la provincia de Córdoba. Colegio de farmacéuticos de la provincia de Córdoba. Guía de Buenas Prácticas de la Actividad Farmacéutica-Elaboración de Productos sanitarios oficinales. Res 379/15. Córdoba (Arg); 2015. Disponible en [http://www.colfacor.org.ar/images/capacitacion/comisiones/comision_preparados/Res.MSPC%20379%2015%20BPEPSO%20\(1\)%20guia.pdf](http://www.colfacor.org.ar/images/capacitacion/comisiones/comision_preparados/Res.MSPC%20379%2015%20BPEPSO%20(1)%20guia.pdf)
16. Dirección de jurisdicción de farmacias. Ministerio de salud de la provincia de Córdoba. Colegio de farmacéuticos de la provincia de Córdoba. Formulario provincial de productos sanitarios oficinales normalizados. Resolución DJF N° 384/2015. Córdoba (Arg); 2015.
17. Castejón J, Castejón I, Magán R. Consideraciones sobre diseño de salas blancas. Montajes e instalaciones. Revista técnica sobre la construcción e ingeniería de las instalaciones. 1999; vol.326: 113-122.
18. American Society of Health System Pharmacists. ASHP guidelines on quality assurance for pharmacy prepared sterile products. Am J Health Syst Pharm 2000; vol.57: 1150-1169.
19. Remington. Farmacia. Volumen 1. 20^a edición. Panamericana. 2003; 899
20. Bykowski T, Stevenson B. Aseptic Technique. Current Protocols in Microbiology. Appendix.2008; vol. 11, N°1: 1-11.
21. Wegier Briuolo A, Barba Escoto L, García Campusano F, Pérez Santacruz J, Flores García, A. Método para el establecimiento in vitro de caoba (*swietenia macrophylla king*) a partir de explantes vegetativos. 2013; 30-31.
22. Guía de buenas prácticas de preparación de medicamentos en servicios de farmacia hospitalaria. Junio 2014.
23. Ministerio de Salud de la Nación. Farmacopea Argentina. Séptima edición. Volumen I. Solución reguladora de fosfato. 2003: 583-584.

CAPÍTULO III

Caracterización Físico- química de CAR

CAPÍTULO III: CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE CAR

1.-INTRODUCCIÓN

A la hora de desarrollar una fórmula destinada a ser utilizada por vía ocular se deben tener en cuenta tanto los aspectos anatómicos y fisiológicos del ojo así como las propiedades fisicoquímicas del fármaco.¹ Cuando se administra un fármaco por esta vía, el grado de penetración va a depender, fundamentalmente, de las barreras fisiológicas que presenta el ojo, del sistema lagrimal y del drenaje, del estado del epitelio corneal, de la unión del fármaco a proteínas y del metabolismo. El grado de penetración también dependerá de las propiedades fisicoquímicas del fármaco en este caso puede influir el pH, la osmolaridad, la viscosidad, el balance hidrofilia-lipofilia, la presencia de promotores de la absorción, tensioactivos, coadyuvantes y excipientes.^{2, 3} Es por ello que las formulaciones de colirios magistrales en solución acuosa requiere la presencia, además del disolvente (agua purificada estéril) de otros componentes como isotonzantes, reguladores de pH y diversos coadyudantes cuyas propiedades y funciones se describen a continuación:

Reguladores de pH de la solución

El pH de las preparaciones oftálmicas debe ser ajustado por diferentes motivos. En primer lugar, se debe disponer de un pH que asegure la estabilidad de la formulación durante su almacenamiento y en el cual la solubilidad acuosa del principio activo sea la adecuada de acuerdo a los requerimientos. Es importante también ajustar el pH para maximizar la eficiencia en la absorción del fármaco a través de la córnea. Como se mencionó previamente el pH del fluido lagrimal es aproximadamente 7,4, presentando una alta capacidad buffer que puede neutralizar el efecto del agregado de ácidos o bases débiles en una formulación, por ende, el ojo puede tolerar importantes desviaciones del pH fisiológico. Algunos colirios son bien tolerados, aunque el pH sea muy distinto al óptimo. Esto es debido a la capacidad tampón de las lágrimas que le permite llevar rápidamente a un valor de pH tolerable en forma casi instantánea soluciones que van de pH 3,5 a 10,5.^{4, 5}

Los valores de pH seleccionados al momento de diseñar una formulación son aquellos capaces de asegurar una buena estabilidad y una actividad terapéutica máxima.

Como se ha indicado, la mucosa ocular presenta una excelente tolerancia a variaciones relativamente grandes de pH.

Como es ampliamente conocido, la solubilidad de un ácido o base débil es con frecuencia dependiente del pH. Cuando la solución presenta un pH donde el fármaco se encuentra totalmente ionizado, el mismo se comportará como un electrolito fuerte y la solubilidad no será un problema. Sin embargo, cuando el pH se ajusta a un valor donde la molécula se presente mayoritariamente no ionizada y en una concentración tal que exceda la solubilidad de esa especie, entonces el principio activo precipitará.⁴

En ese sentido, la solubilidad acuosa aparente de un IFA depende de los equilibrios de ionización que gobiernan el comportamiento pH-solubilidad de la forma neutra del fármaco y de su sal. Teniendo en cuenta esto, se requiere un rígido control del pH, dado que los equilibrios producidos en solución son válidos para determinados valores de concentración de protones. Se emplean generalmente hidróxido sódico y ácido clorhídrico.⁵

Isotonizantes

Los fluidos corporales, incluidos la sangre y la lágrima, presentan una presión osmótica equivalente a una solución 0,9% (P/V) de cloruro de sodio (solución fisiológica). Una solución con la misma presión osmótica que la citada solución es denominada isosmótica. Las soluciones con presiones osmóticas menores o mayores a la de 0,9 % de ClNa son denominadas hiposmóticas o hiperosmóticas respectivamente. En ambos casos, a medida que la solución se aleja de la isotonía ocurren fenómenos de disconfort en el ojo que ocasionan procesos de lagrimación y parpadeo que lógicamente aumentan el drenaje de la formulación. En general, una solución hipertónica es mejor tolerada que una solución hipotónica. Las soluciones hipotónicas incrementan la permeabilidad del epitelio corneal. En la práctica todos los solutos presentes en la formulación (incluyendo el fármaco) aportan a la presión osmótica, debido a que esta es una propiedad coligativa y, por lo general, es necesario el uso de agentes isotonizantes tales como el mismo ClNa o bien otros como dextrosa, sulfato de sodio, glicerina, sorbitol o manitol.⁵

Coadyuvantes

Antioxidantes

Una de las razones por las cuales se agregan los antioxidantes es para optimizar la estabilidad de los agentes terapéuticos que se degradan por oxidación. Algunos ejemplos se recogen en la Tabla 6.

Tabla 6. Algunos agentes antioxidantes utilizados en preparaciones oftálmicas.⁴

| AGENTE ANTIOXIDANTE | CONCENTRACIÓN MÁXIMA HABITUAL (%) |
|--|-----------------------------------|
| Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) | 0,1 |
| Bisulfito sódico | 0,1 |
| Metabisulfito sódico | 0,1 |
| Tiourea | 0,1 |

Viscosantes

Los agentes modificadores de la viscosidad son generalmente polímeros hidrofílicos que se agregan a las soluciones oculares principalmente para controlar la velocidad a la que la gota fluye fuera del recipiente y por lo tanto, facilitar la aplicación. Tabla 7. Además, el agregado de un agente viscosante permite controlar o mejorar el tiempo de permanencia en el sitio de aplicación de la formulación. Como se ha mencionado previamente el tiempo de permanencia en el área precorneal de una solución oftálmica es corto (en promedio 90 segundos) por lo cual si la viscosidad es aumentada, la retención puede ser mejorada.⁵

Tabla 7. Algunos agentes viscosizantes utilizados en preparaciones oftálmicas.⁵

| AGENTE VISCOSIZANTE | CONCENTRACIÓN MÁXIMA HABITUAL (%P/V) | OBSERVACIONES |
|-----------------------------|--------------------------------------|--|
| Carboximetilcelulosa | 2,5 | Compatible con la mayoría de los principios activos |
| Hidroximetilcelulosa | 0,8 | |
| Hidroxiopropilmetilcelulosa | 1,0 | |
| Hialuronato sódico | 0,3 | |
| Metilcelulosa | 2,0 | |
| Alcohol polivinílico | 1,4 | |
| Polivinilpirrolidona | 1,7 | |
| | | La eficacia de algunos conservantes (Timerosal) puede verse afectada por la formación de complejos |

Conservantes

La incorporación de agentes conservantes en colirios tiene como finalidad lograr un período de vida útil razonable para el producto en ausencia de microorganismos.

El problema particular de los colirios es la conservación de la esterilidad en recipientes de dosis múltiples, debido a que los mismos son administrados como gotas mediante el uso de un inserto que puede contaminarse durante cada administración. Esta contaminación inicial lógicamente puede propagarse al resto de la formulación y ocasionar desarrollo microbiano.

Los conservantes deben reunir una serie de consideraciones para su uso. Principalmente no deben ser irritantes ni tóxicos para el tejido ocular, debido a que se utilizan durante periodos prolongados. Deben ser compatibles con los demás componentes de la fórmula y lógicamente tener una alta actividad bactericida frente a un amplio espectro de microorganismos.⁵

Los conservantes más utilizados son los compuestos de amonio cuaternario como el cloruro de benzalconio (BAK), mercuriales (timerosal), biguanidas (clorhexidina) o agentes quelantes (EDTA). Tabla 8.⁵

Tabla 8. Agentes conservantes de uso habitual en la formulación de medicamentos oftálmicos y rango de concentraciones empleadas⁵

| AGENTE | CONCENTRACIÓN (%p/v) | OBSERVACIONES |
|------------------------------|--|--|
| Cloruro de Benzalconio (BAK) | 0,01-0,02 | Incompatible con compuestos aniónicos. Sinergia con clorhexidina, EDTA |
| Clorhexidina | 0,01 | Incompatible con compuestos aniónicos. Sinergia con BAK. |
| Timerosal | 0,001-0,15 (soluciones) 0,001-0,004 (suspensiones) | Incompatible con compuestos de amonio cuaternario. Actividad reducida en presencia de EDTA y metabisulfitos. Causante de reacciones de hipersensibilidad. |
| Clorobutanol | Hasta 0,05 | Incompatible con material de acondicionamiento de plástico, polietileno, etc. Sinergia con feniletanol. Baja actividad como agente único. EDTA 0,01-0,1 Sinergia con BAK. Reduce la actividad del timerosal. Baja actividad como agente único. |
| EDTA | 0,01-0,1 | Sinergia con BAK. Reduce la actividad del timerosal. Baja actividad como agente único. |

2.- METODOLOGIA

Teniendo en cuenta las propiedades físico-químicas necesarias para preparar una formulación oftálmica se desarrollaron los correspondientes CAR. En esta etapa se realizaron los controles de calidad para evaluar que los CAR cumplan con los requisitos

de eficacia, estudiando la concentración de los activos, pH, osmolaridad y tamaño de partícula

El estudio de la concentración de los activos, cuyo margen de variación permitido se ha de situar entre 90 y 110% de la concentración inicial, según Farmacopea, asegura la eficacia del CAR. Se controló la osmolaridad, con valores deseados cercanos al del fluido lagrimal (290 mOsm). El pH, controlado para conocer su evolución a lo largo del tiempo y también para no afectar la solubilidad de Vnc, que disminuye a valores de pH cercanos a 7 (capítulo 1). Se verificó también el tamaño de partículas en la solución, ya que el tamaño máximo admisible es 10 μm (FNA 7ª), y mediante observación macroscópica se evaluó el aspecto de la solución, para la determinación de posible presencia de algún material o partículas extrañas, precipitado u opalescencia. Estos dos últimos aspectos son muy importantes ya que los colirios oftálmicos deben ser límpidos, transparentes y sin aglomerado de partículas.

Todos estos parámetros fueron controlados realizando los estudios por un período de 7 días. Se prepararon por triplicado muestras de colirios de Vnc, Amk y Vnc-Amk, 30 mg/ml, las que fueron conservadas en heladera entre 2 y 8 °C.

2.1.-OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA

La ausencia de partículas en las soluciones, así como la presencia de algún tipo de precipitado se comprobó diariamente por examen visual, utilizando una lámpara led y fondo negro.

2.2.-MEDICIÓN DE pH

Se utilizó pHmetro Mettler Toledo, Seven Multi, calibrado a pH 4 y 7, con un electrodo general. Las mediciones se realizaron durante 7 días.

2.3.-OSMOLARIDAD

El ensayo de osmolaridad se llevó a cabo utilizando un Osmómetro Vapro modelo 5600 empleando una solución de 290 mOsmol/kg como referencia. Se partió de la osmolaridad inicial de las muestras en buffer fosfato pH 6 y se les agregó una

concentración conocida de NaCl, hasta lograr una osmolaridad cercana a la fisiológica, según la siguiente fórmula:⁶

$$\text{Peso (g) de NaCl} = \text{Concentración requerida (M)} \times \text{Total volumen (L)} \times \text{Peso Molecular (g/mol)}$$

Dónde:

$$\text{Concentración requerida} = (\text{Osmolaridad deseada}/1000) - (\text{Osmolaridad actual}/1000)$$

2.4.- DETERMINACIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULA

Para medir el tamaño de partículas presentes en las muestras se utilizó el instrumento Zetasizer Nano Series Malvern. Las muestras fueron estudiadas durante 7 días.

2.5.- ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN Y CONCENTRACIÓN

2.5.a.- Método de cuantificación de Vancomicina.

La cuantificación de Vancomicina presente en las muestras de Vnc y Vnc/Amk se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) Agilent® columna Phenomenex® C18 de 5 μm , de 15 cm de largo x 0,4cm de diámetro interno. La fase móvil utilizada fue una solución tampón de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,05M a pH=4 y acetonitrilo en una proporción de 92:8 v/v. Se utilizó un flujo de 1 ml/min a una temperatura de 40 °C con detección UV a 220 nm.⁷ El tiempo de retención fue 4,988 minutos. Figura 1.

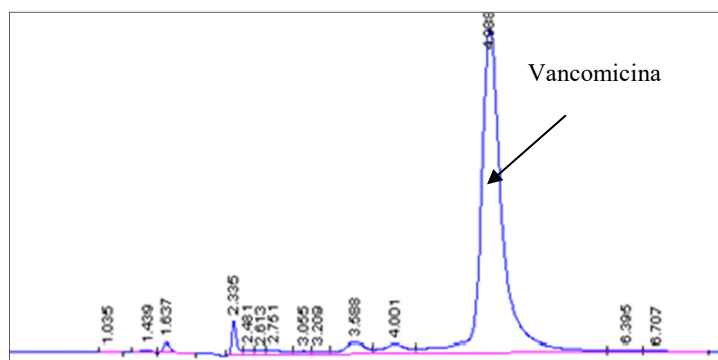


Figura 1. Tiempo de retención de Vancomicina

Se realizó una curva de calibrado de concentraciones crecientes de Vancomicina a 30, 90, 150, 180 y 240 µg/ml, cuyo coeficiente de correlación fue cercano a 0,9995. Figura 2.

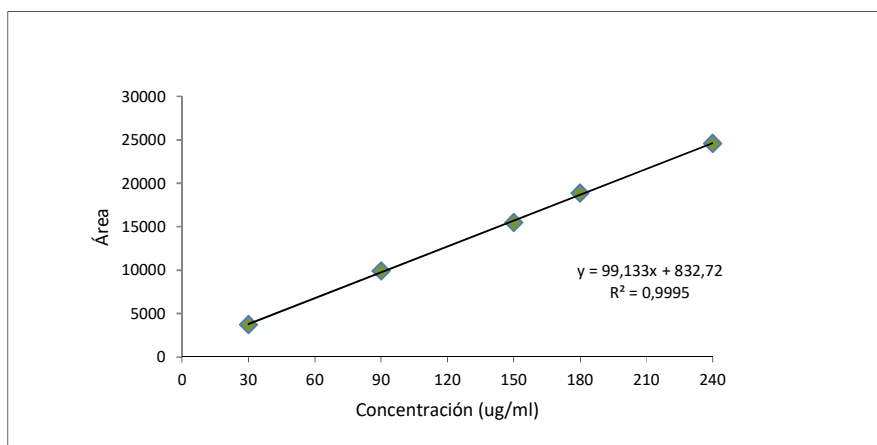


Figura 2. Curva de calibración de Vancomicina Clorhidrato

2.5.b.- Método de cuantificación de Amikacina.

La concentración de Amikacina presente en las muestras de Amk y Vnc-Amk, fue cuantificada por UV, en espectrofotómetro UV VIS TERMO Evolution 300 a una longitud de onda de 340 nm. La solución patrón fue realizada a una concentración de 9 µg/mL utilizando la formulación comercial de Amikacina Sulfato 500 mg ampolla de 2 mL. Figura 3.

Ya que Amikacina carece de grupos cromóforos debió ser derivatizada antes de la detección, para esto se utilizó ortoftaldehído/2 mercaptoetanol (OPA/2ME) relación 1:1, respectivamente. El Ortoftaldehído es uno de los agentes más comunes utilizados para derivatizar aminoglucósidos, principalmente porque la reacción es rápida y se completa a temperatura ambiente.

Reactivo de derivatización: se preparó una solución tampón de borato de potasio a partir de ácido bórico (0,41 g) e hidróxido de potasio (0,36 g), el rango de pH aceptable fue de 10,38-10,42. El reactivo se preparó disolviendo 75 mg de OPA en 0,75 ml de metanol, seguido de la adición de 0,15 ml de mercaptoetanol y luego se llevó a volumen final 15 ml con tampón borato de potasio.⁸

La medición se efectuó a los dos minutos de ser realizada la derivatización.

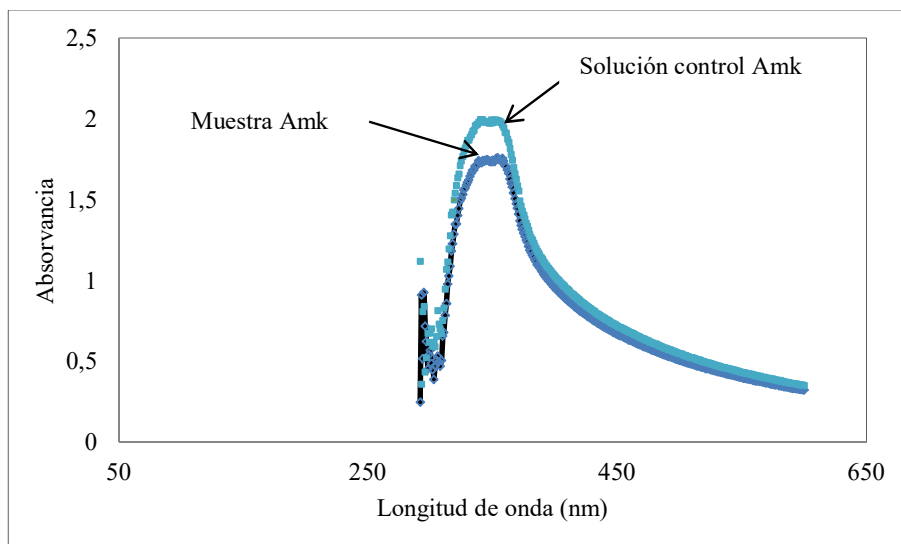


Figura 3. Determinación de la concentración de Amikacina

3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS ESTUDIOS FÍSICOQUÍMICOS

A continuación se detalla la composición cuantitativa de los colirios antibióticos reforzados obtenidos:

| CAR: VANCOMICINA | |
|-------------------------|--------------------|
| MATERIA PRIMA | CANTIDAD (g/10 mL) |
| Vancomicina Clorhidrato | 0,30 |
| Cloruro de Sodio | 0,06 |
| Buffer Fosfato pH 6 | c.s.p. |
| Total | 10,0 |

| CAR: AMIKACINA | |
|---------------------|--------------------|
| MATERIA PRIMA | CANTIDAD (g/10 mL) |
| Amikacina Sulfato | 0,30 |
| Cloruro de Sodio | 0,069 |
| Buffer Fosfato pH 6 | c.s.p. |
| Total | 10,0 |

| CAR: VANCOMICINA-AMIKACINA | |
|----------------------------|--------------------|
| MATERIA PRIMA | CANTIDAD (g/10 mL) |
| Amikacina Sulfato | 0,30 |
| Vancomicina Clorhidrato | 0,30 |
| Cloruro de Sodio | 0,069 |
| Buffer Fosfato pH 6 | c.s.p. |
| Total | 10,0 |

En si los colirios antibióticos reforzados fueron preparados en condiciones isosomótica a un pH ligeramente ácido y con una concentración de 30 mg/mL. Para estas soluciones no se observan a tiempo cero, ninguna partícula. En la Tabla 9 se describe en detalle las condiciones fisicoquímicas mencionadas.

Tabla 9. Resultados de los parámetros fisico-químicos a tiempo 0.

| CAR | Osmolaridad (mOsm) | pH | Concentración (mg/mL) y (%) | Observación macroscópica |
|------------------------|--------------------|-------------|-----------------------------|--------------------------|
| Vancomicina | 287,33 ± 4,51 | 5,61 ± 0,03 | 29,91 ± 0,07 (99,7 %) | Solución transparente |
| Amikacina | 296,67 ± 4,73 | 5,99 ± 0,03 | 30,02 ± 0,04 (100,0 %) | Solución transparente |
| Vancomicina +Amikacina | 315,00 ± 6,56 | 5,60 ± 0,06 | 29,83 ± 0,03 Vnc (99,4 %) | Solución transparente |
| | | | 32,15 ± 0,02 Amk (107,2 %) | |

Las formulaciones magistrales fueron estudiadas por 7 días y conservadas en heladera (2-8 °C). Se le realizó el seguimiento de tamaño de partículas, pH y concentración de fármaco que se detallan a continuación.

3.1.- ESTUDIO DE TAMAÑO DE PARTÍCULA EN CAR

Los resultados arrojados evidencian que los CAR, en un intervalo de 7 días almacenados entre 2 y 8 °C, presentan un tamaño de partícula medio muy bajo en un rango nanométrico. Para formulaciones de Vnc y Vnc-Amk el tamaño de partículas ronda los 3-4 nm, con un porcentaje de prevalencia del 94 y 96 % respectivamente. Existen poblaciones del orden de las micras ($3,0 \pm 0,7 \mu\text{m}$ para Vnc y de $3,5 \pm 0,5 \mu\text{m}$ para Vnc-Amk) con una escasa prevalencia (4-6 %) en un intervalo de 7 días. (Figura 4 A y C).

En la cuantificación de tamaño de partículas de Amk se observan en general poblaciones de tamaño de partícula menores a 2,5 nm con porcentaje de prevalencia mayor al 80%. También se observaron poblaciones del orden de las micras ($4,3 \pm 0,5 \mu\text{m}$) en porcentajes menores. Figura 4

Los datos de baja prevalencia no han sido incluidos en la figura 4 A, B, C.

La ausencia de aglomeraciones o aumento de tamaño de partículas en función del tiempo permite corroborar los resultados obtenidos en la observación macroscópica

de los CAR, en la cual no se detectó la presencia de ningún tipo de precipitado en las soluciones preparadas.

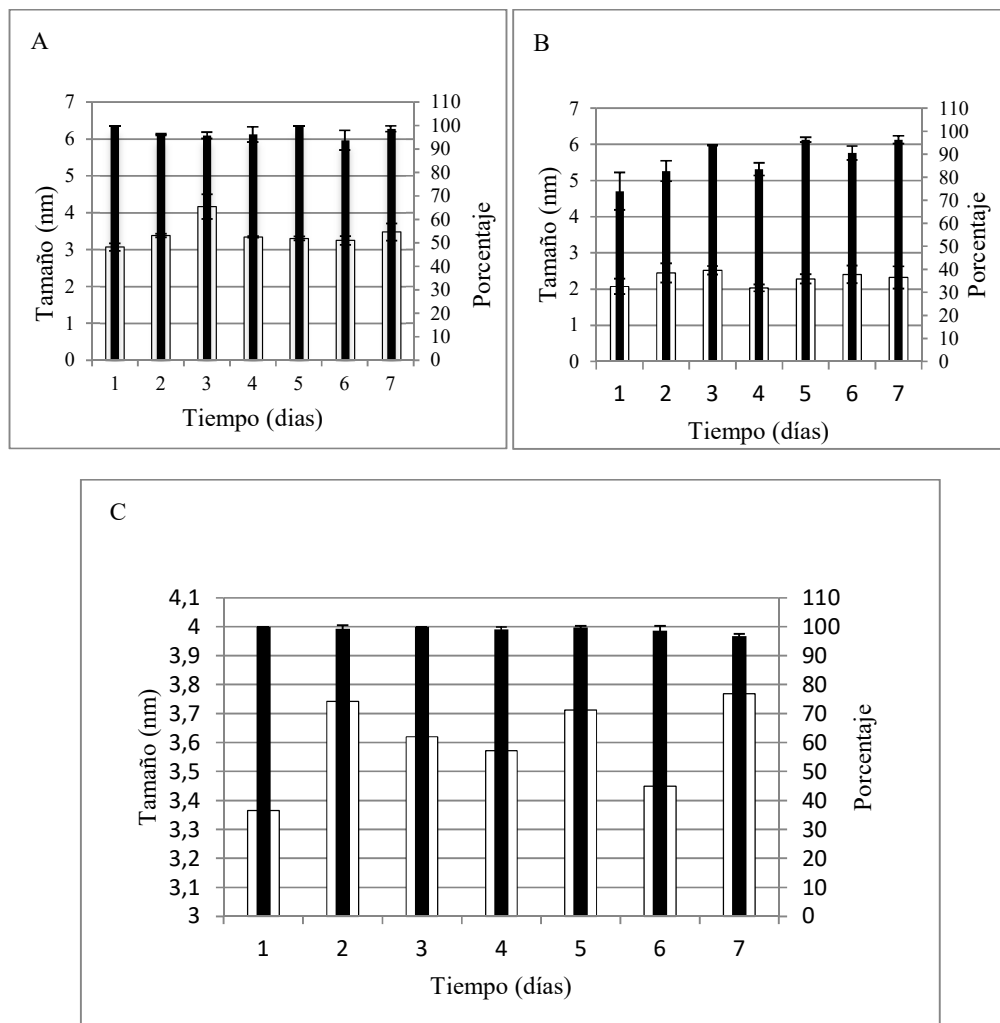


Figura 4. Estudio de tamaño de partícula de colirios antibióticos reforzados, durante 7 días, conservados a 8 °C en heladera. A. Vancomicina. B. Amikacina. C. Vancomicina-Amikacina. ■Porcentaje. □Tamaño de partícula.

3.2.-ESTUDIO DEL pH EN CAR

Vancomicina posee su máxima estabilidad a pH entre 3 y 5.¹⁰ En sí los CAR de Vnc y Vnc-Amk se encuentran en ese rango favoreciendo la estabilidad de Vancomicina por el tiempo analizado ($5,61 \pm 0,03$ y $5,61 \pm 0,03$ respectivamente) Figura 5. En el caso de Amikacina, se ha observado que la modificación del pH de la solución a un pH de 6-6,4 puede ser motivo de un aumento en la CIM.¹² Nuestros ensayos informan valores ($6,00 \pm 0,014$).

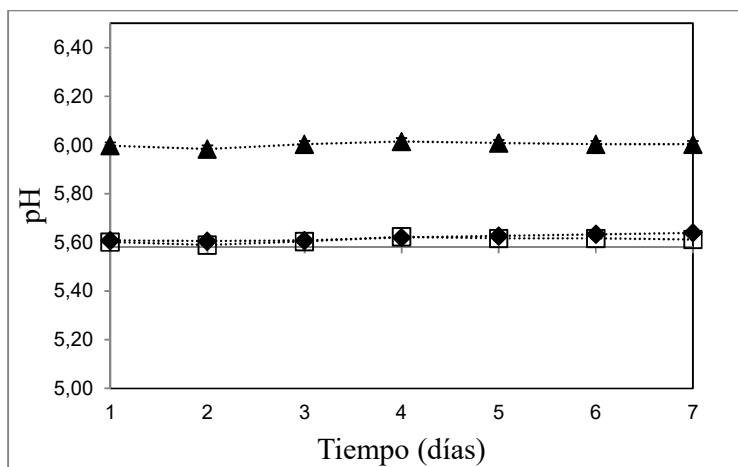


Figura 5. Comparación de los valores pH de los CAR durante 7 días y conservados a 8 °C en heladera.

3.3.-ESTUDIO DE CONCENTRACIÓN DE LOS COLIRIOS DE VANCOMICINA, AMIKACINA Y VANCOMICINA-AMIKACINA EN LA FORMULACIÓN MAGISTRAL

Los valores de concentración de cada uno de los antibióticos estudiados se determinaron individualmente y asociados, considerándose en ambos casos que los resultados obtenidos a tiempo cero (día de elaboración de la solución) equivalen al 100% de la concentración para los dos antibióticos estudiados. En la figura 3 se presenta la curva de degradación porcentual de los valores medios de Vancomicina y Amikacina 30 mg/mL siendo antibióticos reforzados simples, Figura 6 A y como asociados, Figura 6 B. Como puede observarse en todos los casos el mantenimiento de la solución refrigerada permite que la estabilidad de los principios activos sea la adecuada durante al menos 7 días de ensayo.

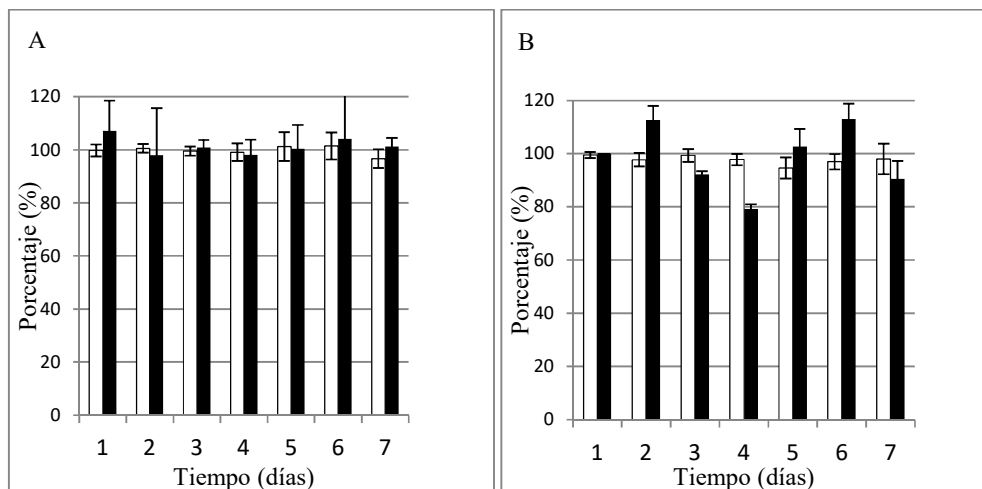


Figura 6. Evolución porcentual de la concentración de colirios antibióticos reforzados simples (A) y asociados (B) entre sí, ensayado durante 7 días y conservados en heladera a 8 °C.
 □ Vancomicina, ■ Amikacina.

4.- DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que el pH de las formulaciones es ligeramente ácido. No se observaron mayores diferencias entre la osmolaridad del colirio con la del fluido lagrimal.

En el intervalo de tiempo estudiado no se observaron de manera macroscópica presencia de precipitado, opalescencia, cambio de color o partículas suspendidas en la formulación.

La concentración de los activos se mantuvo en el rango aceptado en bibliografía y se logró identificar a ambos componentes.

Las formulaciones propuestas en nuestro trabajo de investigación, son sencillas, fueron elaboradas con los ingredientes mínimos, sin conservantes ni excipientes capaces de prolongar la permanencia del colirio en el ojo ni tampoco su periodo de vida útil.

Podríamos mencionar otros estudios en los que se ensayó el comportamiento de Vancomicina cuando es vehiculizada en lágrimas artificiales, estudiando su estabilidad a pH 5 y 3 temperaturas distintas (-10 °C, 4 °C y 25 °C). Desde hace tiempo se han descrito problemas de solubilidad de Vnc en algunos tipos de lágrimas artificiales.⁹ Por



lo que no sería conveniente cambiar las lágrimas artificiales recomendadas en el estudio.¹⁰ Tabla 10

Otro grupo de investigación verificó el congelamiento a -20°C de CAR de Vnc vehiculizada en glucosa 5% y Amk en cloruro de sodio 0,9%, observándolos en el tiempo. Los CAR mantuvieron las características fisicoquímicas durante todo el periodo de estudio, lo que hace posible prepararlos y así mantener un stock para la administración rápida a los pacientes.^{11, 12}

Amk 25 mg/mL en cloruro de sodio 0,9% conservada entre 2-8 °C, mantuvo estabilidad fisicoquímica por 10 días.¹³

La asociación Vnc-Amk, fue estudiada preparando a partir de formulaciones parenterales reconstituidas en agua para inyectables colirios con una concentración de Amk 20 mg/mL y Vnc 50 mg/mL. El colirio se conservó a 4 °C y a resguardo de la luz. El colirio permanece estable durante 14 días. El pH se encuentra en valores cercanos a 5 y la osmolaridad en rango cercano a los del fluido lagrimal.¹⁴

Tabla 10. Comparación de los resultados de investigaciones realizados por diferentes grupos de trabajo sobre CAR.

| Activo | Conc. | Excipientes | Temp. | Conservación | Duración | Osmol. | pH | Cita |
|----------------------------|-------------------|-----------------------|-------|---|----------|--------------|------|------|
| Amiklin® 500 mg | 50mg/mL | Cloruro de Sodio 0,9% | -20°C |  | 75 días | 367 mOsmol | 6,51 | 11 |
| Amikacina 500 mg | 25mg/mL | Cloruro de Sodio 0,9% | 2-8°C |  | 10 días | Sin datos | - | 13 |
| Vancomycine ® 500 mg | 25mg/mL | Dextrosa 5% | -20°C |  | 90 días | 318,3 mOsmol | 3,8 | 12 |
| Vancocin® 500mg | 31mg/mL | Lagrimas Artificiales | -10°C |  | 40 días | Sin datos | 5,0 | 10 |
| | | Tears Humectante | 4°C |  | 10 días | ✓ | 5,0 | |
| | | ® API | 25°C | | 7 días | ✓ | 5,0 | |
| Vnc- Amk | 50 mg/ml-20 mg/ml | Agua p/inyectable | 4 °C |  | 14 días | 300,0 mOsmol | 5,0 | 14 |

 *Protegido de la luz*

5.- CONCLUSIONES

- ✓ Se obtuvieron colirios antibióticos reforzados simples y asociados que cumplen con los parámetros de osmolaridad, pH, tamaño de partícula y concentración

requeridos para una formulación de aplicación tópica oftálmica y de acuerdo a la legislación vigente.

- ✓ Para desarrollarlos se aplicaron los procedimientos de elaboración descriptos. POE 003 y 004.
- ✓ Las formulaciones son estables por 7 días, ya que todos los indicadores estudiados se mantuvieron constantes en ese periodo de estudio.

6.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CAPÍTULO III

- 1- Santos Ramos B, Guerrero Aznar MD. Administración de medicamentos. Teoría y Práctica. Ed. Díaz de Santos. Madrid, 1994.
- 2- Allen, Loyd V. Jr. The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding. Ed. Linda Young. American Pharmaceutical Assotiation. (APhA) Washington DC ISBN-1-58212-035- 8
- 3- Shell JW. Pharmacokinetics of topically applied ophthalmic drugs. *Surv Ophthalmol* 1982; vol. 26: 207-218.
- 4- Allen LV. Basics of Sterile Compounding: Ophthalmic Preparations, Part 1: Ophthalmic Solutions. *Int J Pharm Compd.* 2016; vol. 20, no. 5: 399-404.
- 5- González M, Esteban H. Formulación Magistral en Oftalmología. En: Aspectos Prácticos de la Farmacotecnia en un Servicio de Farmacia: Situación Actual. 1ª edición. Madrid: Master Line & Prodigio, S.L. 2011: 245-274.
- 6- Quinteros D, Palma S. Formas farmacéuticas de uso oftálmico. En: Tópicos de tecnología farmacéutica I. 1ª edición. Buenos Aires: Eudeba; 2019: 251-276.
- 7- De Jesús Valle MJ, González López F, Sánchez Navarro A. Development and validation of an HPLC method for vancomycin and its application to a pharmacokinetic study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2008: 835-839.
- 8- Caturla MC, Cusido E. High-performance liquid chromatography method for the determination of aminoglycosides based on automated pre-column derivatization with o-phthalaldehyde. Elsevier Science Publishers B.V. *Journal of Chromatography*, Febrero 1992; vol. 593: 69-72.
- 9- Osborn E, Baum JL, Ernst C, Koch P. The stability of ten antibiotics in artificial tear solutions. *Am J Ophthalmol.* 1976; vol. 82, no. 5: 775-80.
- 10- Fuhrman LC Jr., Stroman RT. Stability of vancomycin in an extemporaneously compounded ophthalmic solution. *Am J Health-Syst Pharm.* 1998; vol. 55, no. 13: 1386-1388.
- 11- Chédru Legros V, Fines Guyon M, Chérel A, Perdriel A, Albessard F, Debruyne D, Mouriaux F. Fortified antibiotic (vancomycin, amikacin and ceftazidime) eye drop stability assessment at -20 degrees C. *J Fr Ophtalmol.* 2007; vol. 30, no. 8: 807-813.

- 12- Sautou Miranda V, Libert F, Grand Boyer A, Gellis C, Chopineau J. Impact of deep freezing on the stability of 25 mg/ml vancomycin opgtalmic solutions. *Int J Pharm.* 2002; vol. 234, no. 1-2: 205-212.
- 13- Alonso Herreros, J. M. Preparación de medicamentos y formulación magistral para oftalmología. Madrid: Diaz de Santos. 2003: 18
- 14- Chiang CC1, Lin JM, Chen WL, Chiu YT, Tsai YY. Comparison of topical fixed-combination fortified vancomycin-amikacin (VA solution) to conventional separate therapy in the treatment of bacterial corneal ulcer. *Eye (Lond).* 2009 Feb; 23, no 2: 294-8.

CAPÍTULO IV
Estudios Microbiológicos y
de Esterilidad
de CAR

CAPÍTULO IV: ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS Y DE ESTERILIDAD DE CAR

1.- INTRODUCCION

El control de la esterilidad es un punto clave en la preparación de formulaciones oftálmicas y se emplea para verificar la ausencia de contaminación por microorganismos en productos esterilizados o que hayan sido preparados asépticamente.¹ Sabemos ya que la esterilidad en estos preparados magistrales es un requisito fundamental y el farmacéutico debe garantizar que las preparaciones oftálmicas se realizan utilizando la técnica aséptica para que el medicamento sea eficaz y seguro para el paciente.

Los colirios en estudio, como ya lo comentamos, fueron elaborados sin conservantes, por lo que es de vital importancia el control de la esterilidad de los mismos en el tiempo.

La Farmacopea Argentina establece que las soluciones oftálmicas deben contener un conservante para impedir el crecimiento o destruir los microorganismos que se introducen accidentalmente cuando el envase se abre durante el uso. Por su parte la Real Farmacopea Española dicta que las preparaciones acuosas que se presenten en envases multidosis contienen un conservante antimicrobiano apropiado y a la concentración adecuada, con el fin de evitar la contaminación de la preparación durante el tiempo de utilización, excepto cuando la preparación tenga por sí misma suficientes propiedades antimicrobianas.^{2,3}

Las preparaciones en estudio contienen antimicrobianos (Vancomicina y Amikacina) en altas concentraciones, por lo que se esperaría que éstos sean capaces de prevenir la proliferación de microorganismos y los colirios mantengan las condiciones de esterilidad en el tiempo, pudiendo prescindir de la incorporación de conservantes en la formulación.

Existen numerosos estudios que fundamentan los efectos nocivos de los conservantes sobre la córnea, la conjuntiva y la película lagrimal.^{4,5} Esto se evidencia más aún en aquellos pacientes que deben instilarse gotas a diario y a largo plazo, como es el caso de conjuntivitis alérgica, enfermedad del ojo seco o en pacientes

glaucomatosos.⁶ Por lo es importante el desarrollo de formulaciones libres de conservantes, pero que a la vez mantengan la esterilidad durante el periodo de vida útil.

El objetivo de esta etapa fue realizar el test de esterilidad según Farmacopea Argentina (ver Metodología) y realizar la validación de la técnica aséptica preparadas tanto en el Departamento de Ciencias Farmacéuticas como en el laboratorio de Farmacia Vilarrubi (POE 003 y POE 004). Estos estudios fueron realizados tanto en los CAR (Vnc-Amk) como en el envase en ausencia de los antimicrobianos, solamente con el vehículo como control. Además se realizaron estudios de estabilidad por 7 días, es decir su posible contaminación por bacterias y hongos donde nos ayudará a definir la importancia o no de conservantes en la formulación. Para obtener un mayor entendimiento de los procesos involucrados se realiza el siguiente esquema. Figura 1.

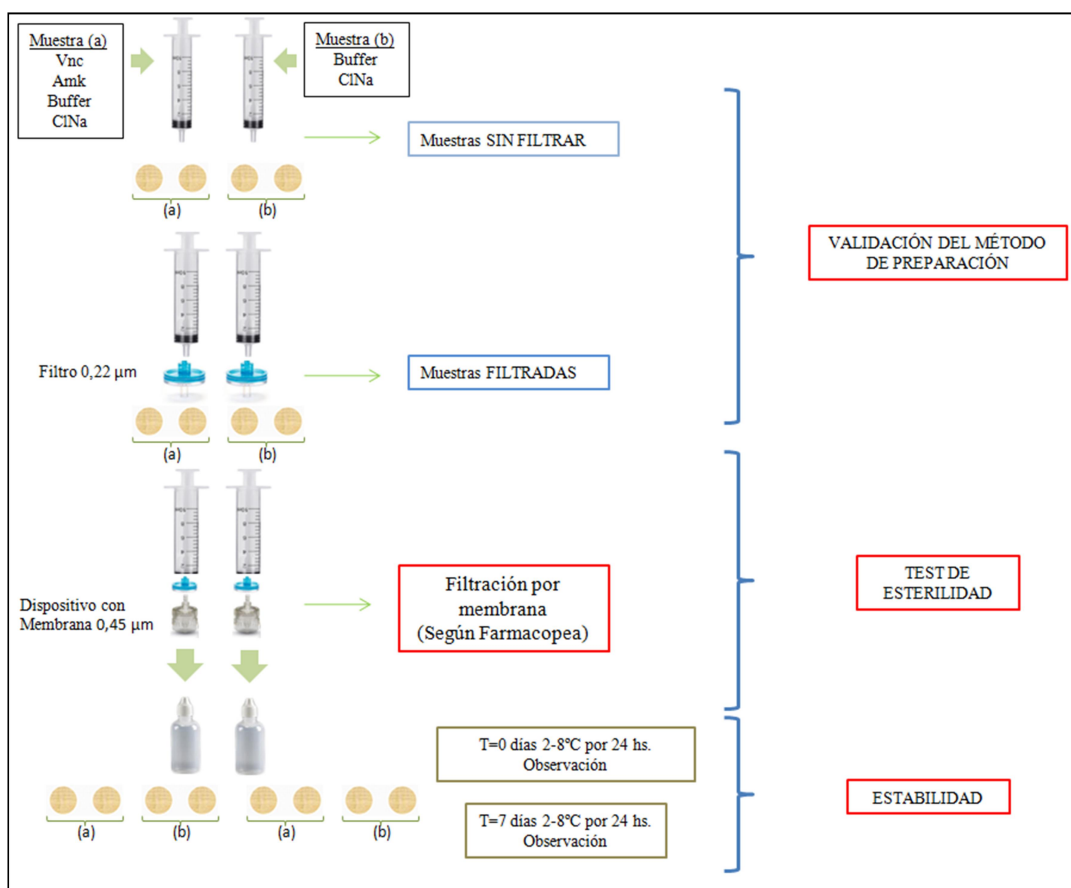


Figura 1. Metodología utilizada en la validación de la técnica aséptica, test de esterilidad y estabilidad en el envase.

La Farmacopea Argentina establece que el método de elección para el estudio de esterilidad en el caso de líquidos filtrables es el de filtración por membrana.

Método de filtración por membrana

En el test de esterilidad se utiliza una unidad de membrana filtrante, que consiste en un dispositivo que posibilita la manipulación aséptica de las muestras a ensayar, permitiendo la remoción aséptica de la membrana y su incorporación al medio de cultivo o un sistema donde el medio pueda ser agregado y la membrana incubada in situ. Figura 2. El dispositivo puede ser montado y esterilizado con la membrana colocada antes de su empleo.¹



Fotografía Cortesía de Merck Millipore

Figura 2. Dispositivo con membrana filtrante

Una membrana apropiada para los ensayos de esterilidad posee un tamaño de poro de 0,45 μm y un diámetro aproximado de 47 mm.

Se filtra la muestra inmediatamente con la ayuda de vacío o presión. Se retira asépticamente la membrana o membranas de sus respectivos dispositivos (si se emplea una sola membrana cortarla por la mitad). Sumergir cada mitad o cada membrana entera, según corresponda, en los medios de cultivo correspondientes e incubar.

2.-METODOLOGÍA

Todos los estudios microbiológicos realizados conllevan la utilización de medios de cultivo. En si un medio de cultivo es aquella solución que contiene los nutrientes

necesarios para recuperar, multiplicar, aislar e identificar los microorganismos bajo las condiciones favorables de temperatura y pH.⁷

Los medios de cultivo empleados en el test de esterilidad son dos caldos, el Medio fluido de Tioglicolato y el Caldo de peptonas de soja y caseína. Estos se pueden preparar a partir de los componentes primarios o empleando mezclas deshidratadas comerciales de fórmulas similares que, después de reconstituidas siguiendo las recomendaciones dadas por el fabricante, cumplan con la Prueba de promoción del crecimiento.

En el caso del ensayo de validación de la técnica aséptica y el estudio de estabilidad fue utilizado el medio de Agar Tripteína Soya en placas de Petri.

Todos los medios de cultivo que lo requieren deben ser esterilizados el mismo día de la preparación y preferentemente dentro de las dos horas. Deben seguirse las recomendaciones del fabricante, típicamente se usa 121 °C durante 15 minutos, utilizando un autoclave calificado y ciclos validados.

Es necesario tener en cuenta que para un correcto uso de los medios de cultivo es necesario realizar el test de promoción de crecimiento y determinar controles positivos y negativo. A continuación se detalla la metodología correspondiente.

Test de promoción de crecimiento: Control positivo⁷

Se debe controlar cada lote de medio de cultivo preparado para los ensayos microbiológicos, verificando que los medios presentan las propiedades nutricionales adecuadas.

Para determinar las propiedades de fertilidad de un medio líquido, se debe sembrar en una porción del medio como máximo 100 UFC del microorganismo apropiado.

Incubar no menos de 3 días a 30–35 °C para el caso de bacterias y no menos de 5 días a 20–25 °C para el caso de hongos y levaduras. Se debe observar una turbidez uniforme, la cual demuestra crecimiento de los microorganismos.

Control negativo⁷

Confirmar la esterilidad de cada lote de medio de cultivo, a través de la incubación de al menos una porción del lote a la temperatura especificada y durante no

menos de 14 días, o incubando un recipiente con medio no inoculado como control negativo durante la realización de cada prueba de esterilidad. No se debe observar indicio de turbidez o cualquier cambio físico en los erlenmeyers que contienen el caldo caldo Tioglicolato y caldo Tripteína Soya lo que indica que los mismos son estériles.

Muestra

En los erlenmeyers que contienen a la muestra en caldo Tioglicolato y caldo Tripteína Soya no se debe observar ningún cambio físico, lo cual demuestra que el producto cumple con la prueba de esterilidad. Deben permanecer transparentes. En caso contrario se repite la prueba, para comprobar si el producto es el contaminado o si el crecimiento que se observa es por una inadecuada técnica durante el proceso del análisis.

2.1.- PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Para llevar a cabo esta operación primeramente se procedió a la limpieza de la mesada con etanol 70° y lavado de manos. Se pesaron 3 gr. de medio de cultivo deshidratado en 4 erlenmeyers, 2 con caldo Tioglicolato lote: 125 vencimiento: 10/18 y 2 con caldo Tripteína Soya lote: 1044 vencimiento: 12/19. Luego se agregó la cantidad de agua destilada necesaria para volumen final 100 ml a cada recipiente para disolver completamente, para optimizar la disolución se ayudó con calentamiento a baño maría. Posteriormente se taparon los recipientes con tapones de gasa y se recubrieron con papel. Finalmente se esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

2.2.- ENSAYO DE PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO: CONTROL POSITIVO

Se pesan los caldos deshidratados en 2 erlenmeyers, uno con caldo Tioglicolato lote: 125 vencimiento: 10/18 y otro con caldo Tripteína Soya lote: 1044 vencimiento: 12/19. Luego se agregó la cantidad de agua destilada necesaria para disolución hasta volumen final 100 ml. Posteriormente se fraccionó cada caldo en 10 tubos de ensayo y se los esterilizó en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Una vez cumplimentada esta etapa, comenzó un trabajo en colaboración con el Laboratorio de Hemoderivados, en donde se inocularon a cada tubo los microorganismos estandarizados indicados en la Tabla 11. Los tubos se incubaron durante 5 días para posterior observación del

crecimiento. Figura 3. Transcurrido este periodo el departamento de microbiología del Laboratorio de Hemoderivados emitió un informe técnico indicando si los caldos de cultivo son nutricionalmente aptos para el estudio.

Tabla 11. Microorganismos para el ensayo de validación de bacteriostasis y fungistasis

| Medio | Microorganismos de ensayo | Incubación | |
|----------------------|---|--|-------------|
| | | Temperatura | Condiciones |
| Medio Tioglicolato | Staphylococcus aureus (ATCC N° 6538) Pseudomonas aeruginosa (ATCC N° 9027) Clostridium sporogenes (ATCC N° 11437) | 32,5 ± 2,5°C 32,5 ± 2,5°C 32,5 ± 2,5°C | Aeróbicas |
| Caldo Tripteína soya | Bacillus subtilis (ATCC N°6633) Candida albicans (ATCC N°10231) Aspergillus Níger (ATCC N°16404) | 22,5±2,5°C 22,5±2,5°C 22,5±2,5°C | Aeróbicas |

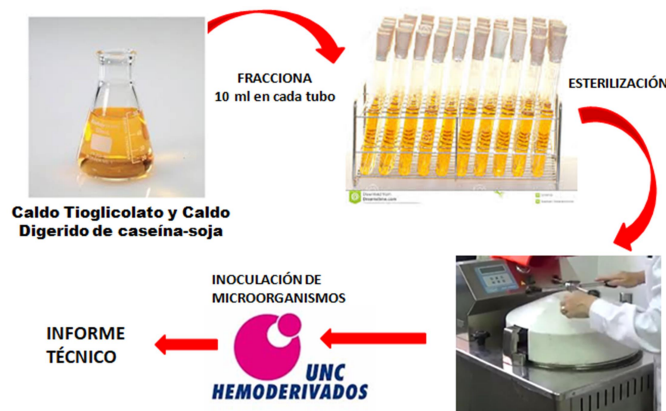


Figura 3- Ensayo de promoción del crecimiento

2.3.- CONTROL NEGATIVO

Se pesaron los caldos deshidratados (caldo Tioglicolato lote: 125 vencimiento: 10/18 y caldo Tripteína Soya lote: 1044 vencimiento: 12/19) en 2 erlenmeyer se disolvieron con agua destilada hasta un volumen final de 100 ml. Se llevaron a esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos y luego se incubaron en estufa a 37°C y 25°C respectivamente en el área de microbiología de control de calidad del Laboratorio de Hemoderivados.

2.4.-SIEMBRA EN PROFUNDIDAD EN PLACAS DE PETRI

Se pesaron 4 gr. del polvo deshidratado (Agar Tripteína Soya lote: 1254 vencimiento: 10/19) se agregó agua destilada hasta un volumen final de 100 ml, se dejó reposar por 5 minutos, se calentó suavemente agitando y se llevó a ebullición por 2 minutos hasta completa disolución. Por último se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Para el análisis se transfirió 1 ml de la de las muestras a cada una de placas de Petri estériles. Se agregó inmediatamente a cada placa entre 15 y 20 ml del Agar Tripteína Soya previamente fundido y enfriado a 45 °C. Se taparon las placas de Petri, se homogeneizó la muestra con el agar por rotación de las placas y se dejó solidificar a temperatura ambiente. Invirtiendo las placas de Petri e incubando a 37 °C durante 24 hs. en cada caso.

2.5.- VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA ASÉPTICA, TEST DE ESTERILIDAD Y ENSAYO DE ESTABILIDAD

Para realizar el estudio de esterilidad y validación de la técnica aséptica se prepararon 2 muestras de 10 ml, una elaborada con los antimicrobianos Vnc , Amk y el vehículo (muestra a) y otra solo con el vehículo, buffer fosfato pH 6 y NaCl, (muestra b). Las muestras se prepararon según el procedimiento correspondiente a cada condición:

- ✓ POE 003-Procedimiento Preparación de colirio antibiótico reforzado en UNC.
- ✓ POE 004- Procedimiento Preparación de colirio antibiótico reforzado en Laboratorio de Farmacia.

Se tomaron muestras de 1ml de a y b antes de filtrar (filtro esterilizante 0,22 µm) y 1 ml de a y b después de filtrar. Este procedimiento se realizó para la validación de la técnica aséptica utilizada por el operador, sembrando en profundidad placas de Petri con Agar tripteína Soya por duplicado e incubando a 37°C para recuento de aerobios viables durante 24 horas.

Para el test de esterilidad de las muestras, se utilizó el método de filtración por membrana, colocando a continuación del filtro de 0,22 μm , el dispositivo con la membrana de poro 0,45 μm , la que luego se extrajo asépticamente, se dividió a la mitad y se colocó en 2 erlenmeyers, para cada muestra con los caldos de cultivo (caldo Tioglicolato y caldo Tripteína Soya) para observar el crecimiento. Estos caldos fueron incubados en estufa a 37 °C y 25 °C respectivamente en el Laboratorio de Hemoderivados y fueron observados a los 4, 10 y 14 días.

Finalmente las muestras a y b, una vez cumplimentados todos los pasos para el estudio microbiológico, fueron envasadas en 2 frascos gotero, acondicionados según POE 002 y almacenadas en heladera entre 2 y 8 °C. Inmediatamente después de ser envasadas, se tomó 1 ml de muestra a y 1 ml de muestra b. Se sembraron por duplicado en placas de Petri con Agar tripteína Soya y se incubaron en estufa durante 24 horas a 37 °C para recuento de aerobios viables. A los 7 días se repitió la operación. Esto se realizó para evaluar el comportamiento de los colirios en su envase final durante 7 días.

3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados observados en la validación del método de preparación constatan las premisas mencionadas donde demuestran tanto antes como después del proceso de filtración (filtro 0,22 μm), ausencia de UFC en las placas sembradas en la muestra de CAR (a) como en el vehículo (b), para ambos procedimientos de trabajos desarrollados en la UNC como en el laboratorio Vilarrubi. Igualmente los resultados observados en el test de esterilidad fueron también favorables para ambas condiciones de trabajo, ya que los medios de cultivos caldo Tioglicolato y caldo Tripteína Soya no presentaron crecimiento bacteriano. Los resultados de este test fueron proporcionados por el Laboratorio de Hemoderivados y en el ANEXO II se adjunta los informes técnicos correspondientes. Esta prueba es de gran importancia, ya que la esterilidad es un requisito fundamental de los colirios oftálmicos. Este resultado significa que no se encontró ningún microorganismo contaminante en las muestras analizadas, garantizando que todo el lote de producción se preparó en condiciones asépticas. Hasta el momento podemos determinar que los POE 003 y 004 permitieron desarrollar CAR con calidad y acorde a la normativa vigente.

Ahora bien, el resultado de los estudios de estabilidad del CAR Vnc-Amk y el vehículo demuestra que en ambas condiciones de trabajo no se detectan UFC en las placas a tiempo 0 y a 7 días luego de 24 horas de incubación cada una. Esto permitió evidenciar su estabilidad por 7 días en ausencia de conservantes, lo que permite desarrollar CAR de manera aséptica y segura. Además se pudo validar el POE 002 (envase final del producto y su procedimiento de acondicionamiento), ya que el envase final resguardó las muestras de manera óptima durante el tiempo estudiado, lo que proporciona seguridad también en el material de acondicionamiento utilizado para almacenar los colirios.

A futuro podrían realizarse estudios microbiológicos durante la utilización de los colirios por los pacientes, para evaluar el comportamiento y posible contaminación.

Es importante comentar también que durante nuestra investigación no hemos encontrado ningún grupo de trabajo que haya intentado realizar preparados magistrales oftálmicos utilizando mechero para generar un campo estéril. Pero de acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio de esterilidad, trabajando en el laboratorio de la farmacia, el mechero resultó un elemento capaz de generar esterilidad con mínima inversión. Siempre teniendo en cuenta que estamos hablando de lotes muy pequeños (2 o 3 unidades). Para lotes de mayor tamaño, que requieran mayor cantidad de materiales habría que realizar nuevos estudios. Ya que, en este caso, se trató de manipular todos los elementos lo más cerca posible de la llama y esto se dificultaría con mayor volumen de material.

Para los resultados favorables en la validación de la técnica fueron claves el correcto manejo de la técnica aséptica y la capacitación y conocimiento por parte del operador del correcto comportamiento en el área de trabajo.

Aunque un entorno de trabajo completamente estéril no puede lograrse, procedimientos tales como la desinfección de superficies de laboratorio, la creación de una atmósfera cuidada, limitar la exposición de trabajo a las corrientes de aire, evitar el contacto de los instrumentos esterilizados con superficies no estériles y realizar los procedimientos en forma ordenada, reduce la posibilidad de contaminar las soluciones.


La Capacitación y Entrenamiento del personal es quizás la herramienta más poderosa que se tiene para lograr los resultados deseados cuando no se dispone del equipamiento necesario en el laboratorio de preparados magistrales.

4.- CONCLUSIONES

- ✓ Se logró evaluar y validar el desempeño en las 2 condiciones de trabajo propuestas. POE 003 y 004, validando la técnica aséptica en ambos.
- ✓ Se logró garantizar el requisito de esterilidad, con estudios idénticos a una formulación de producción industrial.
- ✓ Se pudo desarrollar una formulación colirio antibiótico reforzado sin conservantes manteniendo ausencia de microorganismos por 7 días.
- ✓ Se validó el envase final del producto y su procedimiento de acondicionamiento. POE 002.
- ✓ De esta manera se propone para los colirios, de acuerdo a los resultados obtenidos, un periodo de caducidad de 7 días, conservados en heladera entre 2 y 8 °C.

ANEXO II

RESULTADO DEL TEST DE ESTERILIDAD MUESTRAS ELABORADAS EN EL DEPARTAMENTO DE FARMACIA. UNC

| | | |
|---|---------------------|-------------------------------|
|  | INFORME | |
| | Test de Esterilidad | Dto Microbiología Año 2017 |

TEST DE ESTERILIDAD

METODO: FILTRACION A TRAVES DE MEMBRANA

MUESTRAS: 1- Formulación (Solución Mezcla de Vancomicina-Amikacina)
2- Vehículo (Buffer fosfato pH6 con agregado de solución de Cloruro de sodio para ajustar osmolaridad)

CANTIDAD DE MUESTRAS ENSAYADAS: 1 (UNA)

FECHA DE REALIZACION: 31-10-2017

MEDIOS DE CULTIVO: Marca comercial Britania

TG: Caldo Tioglicolato LOTE: 125 vto: 10/2018 volúmen: 100 ml

CTS: Caldo Tripteína soya LOTE: 1044 vto: 12/2019 volúmen: 100 ml

Adecuación Nutricional de los medios: **Satisfactoria**

CONDICIONES DE INCUBACION:

TEMPERATURA: TG: 30-35 °C Tiempo de incubacion: 14 días
CTS: 20-25°C


OBSERVACION DURANTE LA INCUBACION:

| MUESTRA | DIA 4 | DIA 10 | DIA 10 | DIA 14 | RESULTADO |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------|
| | T / C | T / C | T / C | T / C | |
| 1-Formulación | (-) / (-) | (-) / (-) | (-) / (-) | (-) / (-) | Satisfactorio |
| 2- Vehículo | (-) / (-) | (-) / (-) | (-) / (-) | (-) / (-) | Satisfactorio |
| Control (-) | (-) / (-) | (-) / (-) | (-) / (-) | (-) / (-) | Satisfactorio |

FECHA DEL INFORME: 08-02-18


JEFELABORATORIO MICROBIOLÓGICO
CONTROL DE CALIDAD
U.N.C. HEMODERIVADOS

**RESULTADO DEL TEST DE ESTERILIDAD MUESTRAS ELABORADAS EN
EL LABORATORIO DE FARMACIA VILARRUBI**

| | | |
|---|---------------------|-------------------------------|
|  | INFORME | |
| | Test de Esterilidad | Dto Microbiología Año 2017 |

TEST DE ESTERILIDAD

METODO: FILTRACION A TRAVES DE MEMBRANA

MUESTRAS: 1- Formulación (Solución Mezcla de Vancomicina-Amikacina)
2- Vehículo (Buffer fosfato pH6 con agregado de solución de Cloruro de sodio para ajustar osmolaridad)

CANTIDAD DE MUESTRAS ENSAYADAS: 1(UNA)

FECHA DE REALIZACION: 13-12-2017

MEDIOS DE CULTIVO: Marca comercial Britania

TG: Caldo Tioglicolato LOTE: 125 vto: 10/2018

CTS: Caldo Tripteína soya LOTE: 1044 vto: 12/2019

volúmen: 100 ml

volúmen: 100 ml

Adecuación Nutricional de los medios: **Satisfactoria**

CONDICIONES DE INCLUBACION:

TEMPERATURA: TG: 30-35 °C

CTS: 20-25°C

Tiempo de incubacion: 14 días

OBSERVACION DURANTE LA INCUBACION:

| MUESTRA | DIA 4 | | DIA 10 | | DIA 10 | | DIA 14 | | RESULTADO |
|---------------|-------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|---------------|
| | T | C | T | C | T | C | T | C | |
| 1-Formulación | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | Satisfactorio |
| 2- Vehículo | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | Satisfactorio |
| Control (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | Satisfactorio |

FECHA DEL INFORME: 08-02-18


 Jefe Dpto. Microbiológico
 CONTROL DE CALIDAD
 U.N.C. HEMODERIVADOS

5.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CAPÍTULO IV

- 1- Ministerio de Salud de la Nación. Farmacopea Argentina. Séptima edición. Volumen I. Ensayos de esterilidad. 2003: 201-208.
- 2- Ministerio de Salud de la Nación. Farmacopea Argentina. Séptima edición. Volumen I. Preparaciones oftálmicas. Conservación. 2003: 414.
- 3- Real Farmacopea Española. III ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. 2007.
- 4- Baudouin C, Labbe A, Liang H. Preservatives in eye drops: The good, the bad and the ugly, Progress in Retinal and Eye Research. 2010, vol.29, no.4: 312-346.
- 5- Rolando, et al. The effect of different benzalkonium chloride concentrations on human normal ocular surface. The lacrimal system. Kugler and Ghedini Publications, Amsterdam, Berkeley, Milano, 1991.
- 6- Baudouin C. Detrimental effect of preservatives in eye drops: implications for the treatment of glaucoma. Acta Ophthalmol. 2008; vol. 86: 716–726.
- 7- Petracca A, Vázquez A. Métodos de control. Capítulo IV.1. En Ensayo de esterilidad. Manual de microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos. 1ª edición. Buenos Aires. 2013: 249-274.

CAPÍTULO V

Conclusiones generales y perspectivas.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES GENERALES, PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES

1.- CONCLUSIONES GENERALES

- ✓ De acuerdo con los resultados obtenidos puede comprobarse que se lograron los objetivos planteados, ya que fue posible el desarrollo de procedimientos operativos estándar para la elaboración a pequeña escala de colirios magistrales estériles en 2 condiciones de trabajo, los que fueron diseñados teniendo en cuenta las directrices de las buenas prácticas de fabricación y con especial atención en la aplicación rigurosa de la técnica aséptica. POE 003 y POE 004.
- ✓ Aplicando los procedimientos se obtuvieron colirios antibióticos reforzados simples y asociados, SIN conservantes, que cumplen con los parámetros de osmolaridad, pH, tamaño de partícula y concentración requeridos para una formulación de aplicación tópica oftálmica y de acuerdo a la legislación vigente.
- ✓ Mediante estudios microbiológicos y de esterilidad se pudo evaluar y validar el desempeño de las dos condiciones de trabajo propuestas (POE 003 y 004) validando la técnica aséptica en ambos, y también garantizar el requisito de esterilidad en los colirios, con estudios idénticos a una formulación de producción industrial.
- ✓ También se redactó un procedimiento para acondicionar el envase final del producto: POE 002.
- ✓ Por medio de estudios microbiológicos se comprobó que los envases conservan la esterilidad del colirio por 7 días a temperatura de refrigerio. De esta manera se propone para los colirios antibióticos reforzados un periodo de caducidad de 7 días, conservados en heladera entre 2 y 8 °C.

2.- PERSPECTIVAS

- ✓ En otra etapa podrían realizarse test de potencia de los antibióticos y de irritabilidad ocular.

- ✓ Es imprescindible establecer nuevas estrategias de optimización encaminadas principalmente a garantizar la seguridad y a mejorar la formulación, empleando vehículos que permitan obtener una permanencia prolongada del medicamento sobre la superficie ocular.
- ✓ Es necesario promover el desarrollo de estudios que permitan determinar la eficacia de estos antibióticos y estimar las concentraciones que resulten efectivas y no tóxicas para la superficie ocular.

3.- RECOMENDACIONES

- ✓ Tener en cuenta que, no siempre se aconseja llevar el colirio al pH de las lágrimas sin previa investigación de la estabilidad del principio activo a dicho pH.
- ✓ Siempre que sea posible, no incluir conservantes en la formulación, especialmente en los colirios de uso crónico.
- ✓ El personal a cargo debe tener conocimiento sobre buenas prácticas de elaboración y manejo de técnicas asépticas.
- ✓ Sería conveniente, en el momento de la dispensación, entregar al paciente un instructivo escrito sobre el correcto uso y conservación del colirio.