

Stabiliteitsonderzoek van omgepakt bevacizumab voor intravitreale injectie

Marieke Pereboom ^a, Matthijs L. Becker ^b, Mostapha Amenchar ^c, Sjoerd L. Verweij ^d, Ruud T.M. van der Hoeven ^e en Inge J. Mulder ^{e*}

^a AIOS ziekenhuisfarmacie, Stichting Apotheek der Haarlemse Ziekenhuizen, Haarlem.

^b Ziekenhuisapotheker en klinisch epidemioloog, Stichting Apotheek der Haarlemse Ziekenhuizen, Haarlem.

^c Analist, Stichting Apotheek der Haarlemse Ziekenhuizen, Haarlem.

^d Ziekenhuisapotheker en opleider, Stichting Apotheek der Haarlemse Ziekenhuizen, Haarlem.

^e Ziekenhuisapotheker, Stichting Apotheek der Haarlemse Ziekenhuizen, Haarlem.

* Correspondentie: imulder@sahz.nl.

Kernpunten

- Intravitreale injecties met bevacizumab worden frequent *off-label* toegepast voor de behandeling van natte maculadegeneratie.
- Uit ons houdbaarheidsonderzoek naar bevacizumab in spuiten voor intravitreale injectie bleek dat het aantal deeltjes in de spuiten toenam in de tijd en na 7 dagen niet meer voldeed aan de eis van de Amerikaanse Farmacopee.
- Dit kan een verklaring zijn voor de in de literatuur beschreven oculaire bijwerkingen van intravitreaal bevacizumab.

Inleiding

Leeftijdsgelaten maculadegeneratie (LMD) is een van de belangrijkste oorzaken van visusverlies bij ouderen. LMD wordt ingedeeld in een droge en een natte variant. Natte of neovasculaire LMD (nLMD) kenmerkt zich door de groei van abnormale, fragiele bloedvaatjes. De belangrijkste behandeling van nLMD is een intravitreale injectie met een antagonist van de vasculaire endotheliale groeifactor (VEGF). In Nederland worden hiervoor twee VEGF-antagonisten gebruikt, te weten ranibizumab (Lucentis, Genentech) en bevacizumab (Avastin, Genentech). Ranibizumab is door het European Medicines Agency (EMA) geregistreerd voor de behandeling van nLMD. Bevacizumab is geregistreerd voor de behandeling van colorectale kanker. De samenvatting van de productkenmerken van bevacizumab geeft aan dat het niet bedoeld is voor intravitreale injectie [1]. Toch wordt bevacizumab frequent *off-label* gebruikt omdat de kosten per behandeling circa 200 keer lager liggen dan de kosten van ranibizumab. In 2012 zijn de resul-

ABSTRACT

Stability assessment of repackaged bevacizumab for intravitreal administration

OBJECTIVE

To investigate the stability of bevacizumab syringes. Intravitreal bevacizumab is frequently used off-label for the treatment of neovascular age-related macular degeneration, but there are concerns about the safety of intravitreally administered bevacizumab. It is suggested that repackaging bevacizumab in plastic syringes may affect the safety due to the unknown shelf life of the syringes.

DESIGN AND METHODS

In this study we analysed the shelf life of the repackaged bevacizumab syringes, stored at 4°C, at certain time intervals.

RESULTS

Over the 32 days tested, bevacizumab concentration and pH were stable. However, the number of particles in the repackaged bevacizumab syringes increased during storage at 4°C and had exceeded the limits for intravitreal injections after 7 days.

CONCLUSION

Since the number of particles seems to be the limitation of the shelf life of repackaged bevacizumab, it is necessary to quantify the number of particles in repackaged bevacizumab. Based on our results, the maximum shelf life of repackaged bevacizumab should be 3 days.

Pereboom M, Becker ML, Amenchar M, Verweij SL, van der Hoeven RTM, Mulder IJ. Stabiliteitsonderzoek van omgepakt bevacizumab voor intravitreale injectie. PW Wetenschappelijk Platform. 2015;9:a1542.

Dit artikel is een vertaling van: Pereboom M, Becker ML, Amenchar M, Verweij SL, van der Hoeven RT, Mulder IJ. Stability assessment of repackaged bevacizumab for intravitreal administration. Int J Pharm Compd. 2015 Jan-Feb;19(1):70-2.

taten van een grote multicentrische gerandomiseerde studie met 1185 patiënten gepubliceerd. Hierin werd aangetoond dat de effecten van bevacizumab en ranibizumab op de visus over een periode van twee jaar vergelijkbaar zijn [2].

Wel zijn er zorgen geuit over de veiligheid van de intravitreale toediening van bevacizumab. Serieuze bijwerkingen als endoftalmitis (een intraoculaire ontsteking), netvliesloslating en uveïtis zijn gerapporteerd en in een systematische review werd een verhoogd risico gevonden op oculaire bijwerkingen bij gebruik van bevacizumab in vergelijking

met ranibizumab (relatief risico 2,8; 95%-betrouwbaarheidsinterval 1,2-6,5) [3]. Een mogelijke oorzaak van deze verhoogde kans op bijwerkingen is het ompakken van bevacizumab in spuiten.

Bevacizumab wordt omgepakt omdat de handelsproducten 100 of 400 mg (25 mg/mL) bevatten terwijl er voor de behandeling van nLMD slechts 1,25 mg nodig is. Om kosten te besparen worden daarom meerdere spuiten (met een kleine overmaat) uit één flacon opgetrokken en bewaard tot deze toegediend worden. De houdbaarheid die aan deze spuiten toegekend kan worden is echter onduidelijk aangezien verschillende factoren hier invloed op hebben. Uit een onderzoek van Liu e.a. blijkt dat eiwitaggregatie in de spuiten en contaminatie met siliconenolie belangrijke factoren kunnen zijn [4]. Deze factoren zouden een oorzaak kunnen zijn van de eerder genoemde bijwerkingen.

Er is bij ons geen studie bekend die het aantal deeltjes in de spuiten bevacizumab in de loop van de tijd heeft gevolgd. Aangezien de Europese Farmacopee (Ph. Eur.) geen test beschrijft voor het meten van deeltjes in oogheelkundige oplossingen als oogdruppels of intravitreale injecties, worden voor intravitreale injecties de eisen van de Amerikaanse Farmacopee (USP) toegepast, op advies van het Laboratorium der Nederlandse Apothekers [5]. Hoofdstuk 789 van de USP vermeldt dat oogheelkundige oplossingen per mL maximaal 50 deeltjes > 10 µm en 5 deeltjes > 25 µm mogen bevatten.

In deze studie onderzoeken we de houdbaarheid van bevacizumab in spuiten. Een langere houdbaarheid kan de spillage van bevacizumab reduceren omdat hierdoor op één tijdstip meer spuiten opgetrokken kunnen worden om patiënten te behandelen. Voor dit onderzoek zijn twee batches spuiten uit flacons van 400 mg opgetrokken. Deze spuiten zijn bewaard bij koelkasttemperatuur (2 tot 8°C) en op verschillende momenten getest op pH, osmolariteit, concentratie bevacizumab, *leachables* en het aantal deeltjes in de oplossing. Aan de hand van deze gegevens hebben we bepaald met welke houdbaarheid de opgetrokken spuiten bevacizumab veilig gebruikt kunnen worden.

Methoden

Voor het stabiliteitsonderzoek zijn twee charges bevacizumab (Roche Nederland) gebruikt. De bevacizumab werd opgetrokken in spuiten van 1 mL (tuberculine, 1 × 100 Norm-Ject van Henke Sass Wolf, Tuttlingen, Duitsland), welke werden afgesloten met een flexibele dop (SCF-130, B. Braun Medical, Oss). De spuiten werden bewaard bij koelkasttemperatuur (2 tot 8°C). In eerste instantie werden 72 spuiten met 150 µL (3,75 mg) en 164 spuiten met 1 mL (25 mg) opgetrokken uit 12 flacons van 400 mg bevacizumab.

Na 3, 32 en 54 dagen werd getest op pH, osmolariteit, concentratie bevacizumab, *leachables* en het aantal deeltjes in de oplossing (conform de GMP-Z ‘Z3 Aseptische handelingen’). Voor de gehaldebepaling is een HPLC-methode

ontwikkeld die gebaseerd is op de methode van Paul e.a. [6]. Het aantal deeltjes werd bepaald met behulp van de in de Ph. Eur. beschreven *Light obscuration particle count test*.

Ter vergelijking is tevens natriumchloride in hetzelfde type spuiten opgetrokken. Deze spuiten werden na 0, 30, 90 en 180 dagen geanalyseerd.

Na het bekend worden van de eerste resultaten zijn nogmaals 30 spuiten met 25 mg (1 mL) uit 2 flacons bevacizumab opgetrokken. Het aantal deeltjes in deze spuiten is 7 dagen na optrekken bepaald.

Resultaten

De resultaten van het stabiliteitsonderzoek van bevacizumab in spuiten zijn weergegeven in tabel 1. De concentratie bevacizumab, de osmolariteit en de pH bleven stabiel over de gemeten periode. De screening op *leachables* liet geen andere pieken zien dan we al bij de spuiten met NaCl op *t* = 0 hadden gezien. Het aantal deeltjes nam echter toe in de tijd en voldeed na 7 dagen niet meer aan de eis die beschreven is in de USP.

De resultaten van het stabiliteitsonderzoek van natriumchloride zijn weergegeven in tabel 2. De pH van deze spui-

Tabel 1 Stabiliteit van bevacizumab in spuiten

Kenmerk	Specificatie	Tijd			
		dag 3	dag 7	dag 32	dag 54
pH	4,5-6,5	6,1		6,2	
Osmolariteit	260-320	287		289	
Concentratie (mg/mL)					
• originele flacon	22,5-27,5	24,9		24,8	
• spuit	22,5-27,5	25,0		25,0	
<i>Leachables</i>		*		*	
Aantal deeltjes per mL					
• ≥ 10 mm	≤ 50	40	200	1442	1342
• ≥ 25 mm	≤ 5	1	8	31	17

* Een kleine piek (retentietijd 3,3 min) werd gevonden.

Tabel 2 Stabiliteit van natriumchloride in spuiten

Kenmerk	Specificatie	Tijd			
		dag 0	dag 30	dag 90	dag 180
pH		6,2	5,9	5,9	5,7
<i>Leachables</i>		*	*	*	*
Aantal deeltjes per mL					
• ≥ 10 mm	≤ 50	52	89	2	80
• ≥ 25 mm	≤ 5	3	2	0	0

* Een kleine piek (retentietijd 3,3 min) werd gevonden.

ten bleef stabiel in de tijd en de toename in het aantal deeltjes werd bij deze spuitniet waargenomen.

Beschouwing

Het belangrijkste resultaat van onze studie is dat de spuitniet die zijn gevuld met bevacizumab, 7 dagen na optrekken niet meer voldoen aan de eisen voor intravitreale injecties die beschreven zijn in de USP. Ter vergelijking zijn tevens spuitniet met natriumchloride opgetrokken. Het aantal deeltjes in deze spuitniet nam niet toe tijdens bewaren. Bij verschillende metingen voldeden ook deze spuitniet echter niet aan de eisen die beschreven zijn in de USP.

De gemeten deeltjes in de spuitniet met bevacizumab kunnen siliconenolie zijn, afkomstig van de gebruikte spuitniet. Een andere mogelijkheid is dat het verhoogde aantal deeltjes veroorzaakt wordt door eiwitaggregaten van bevacizumab. Aangezien het aantal deeltjes in de spuitniet met natriumchloride lager was dan het aantal deeltjes in de spuitniet met bevacizumab, is het aannemelijk dat de toename in deeltjes veroorzaakt wordt door bevacizumab. Het waarschijnlijkst is dat bevacizumab eiwitaggregaten vormt, aangezien deze aanname wordt ondersteund door eerder gepubliceerde studies.

Uit een onderzoek van Liu e.a. bleek dat de spuitniet met bevacizumab eiwitaggregaten kunnen bevatten en tevens met siliconenolie gecontamineerd kunnen zijn [4]. In deze studie werd aangetoond dat het aantal deeltjes per batch bevacizumab verschilde en het aantal deeltjes was onafhankelijk van het type spuit dat gebruikt werd. Paul e.a. voerden een fysisch-chemische stabiliteitsstudie uit waaruit bleek dat de primaire, secundaire en tertiaire structuur van bevacizumab gedurende drie maanden bewaren bij 4°C niet veranderde [5]. Ook deze studie beschreef aanwezigheid van siliconenolie in de gebruikte spuitniet. Beide studies bevestigen onze resultaten wat betreft de aanwezigheid van niet-zichtbare deeltjes in de spuitniet met bevacizumab. Deze studies beschreven echter geen toename van deeltjes in het verloop van de tijd.

De toename van de deeltjes in de tijd doet de vraag rijzen of de spuitniet gevuld met bevacizumab wel veilig gebruikt kunnen worden wanneer deze voor een langere tijd bewaard zijn. De limieten die beschreven zijn in de USP zijn gebaseerd op de aanname dat de aanwezigheid van niet-zichtbare deeltjes in intravitreale injecties niet acceptabel is. Wat de klinische consequentie van de aanwezigheid van deze deeltjes is, is tot op heden echter nog niet bekend. Onze resultaten kunnen de suggestie wekken dat er een relatie bestaat tussen een te hoog aantal deeltjes in de injectie en de oculaire bijwerkingen die na toediening van bevacizumab in de literatuur beschreven zijn.

Doordat op dit moment niet bekend is wat de klinische consequenties zijn van de aanwezigheid van niet-zichtbare deeltjes, dienen opgetrokken spuitniet te voldoen aan de eisen beschreven in de USP. Aangezien de toename in

deeltjes de houdbaarheid van de spuitniet bevacizumab lijkt te verkorten, zou het aantal deeltjes bepaald moeten worden wanneer de spuitniet niet direct na optrekken worden toegediend aan de patiënt. Het aantal deeltjes dat gevonden werd na 3 dagen bewaren voldeed aan de eisen van de USP. Om deze reden hanteren wij een houdbaarheid van 3 dagen na optrekken in de spuit.

Onze studie heeft diverse sterke en zwakke punten. Een sterk punt is dat wij, voor zover ons bekend, het eerste stabiliteitsonderzoek hebben uitgevoerd waarbij het aantal deeltjes in de loop van de tijd onderzocht is. Een zwak punt is dat we het onderzoek niet in duplo hebben uitgevoerd omdat bevacizumab een duur geneesmiddel is en er voor de bepaling van deeltjes een groot volume noodzakelijk is. Ook hebben we de gevonden deeltjes niet kunnen karakteriseren, waardoor we de oorzaak van het ontstaan van deze deeltjes niet hebben kunnen vaststellen.

Conclusie

Onze studie heeft laten zien dat het aantal deeltjes in de spuitniet gevuld met bevacizumab na 7 dagen bewaren bij koelkasttemperatuur niet meer aan de eisen van de USP voldeed. Aangezien de toename in deeltjes de houdbaarheid van de spuitniet bevacizumab lijkt te verkorten, zou dit bepaald moeten worden wanneer de spuitniet na optrekken niet direct toegediend worden. Op basis van onze resultaten hanteren wij een houdbaarheid van maximaal 3 dagen bij 4°C.

Geen belangenverstrengeling gemeld.

Literatuur

- Summary of Product Characteristics Avastin 25 mg/ml concentrate for solution for infusion. Welwyn Garden City: Roche Registration; 2010 Jan.
- Comparison of Age-related Macular Degeneration Treatments Trials (CATT) Research Group, Martin DF, Maguire MG, Fine SL, et al. Ranibizumab and bevacizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration: two-year results. *Ophthalmology*. 2012 Jul;119(7):1388-98.
- Schmucker C, Ehlken C, Agostini HT, et al. A safety review and meta-analyses of bevacizumab and ranibizumab: off-label versus goldstandard. *PLoS One*. 2012;7(8):e42701.
- Liu L, Ammar DA, Ross LA, Mandava N, Kahook MY, Carpenter JF. Silicone oil microdroplets and protein aggregates in repackaged bevacizumab and ranibizumab: effects of long-term storage and product mishandling. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Feb 22;52(2):1023-34.
- Boecke AW, Den Hartigh J, Le Brun PP, et al. Normering deeltjes in oogdruppels. Veldnorm. Den Haag: Laboratorium der Nederlandse Apothekers; 2012 sep.
- Paul M, Vieillard V, Roumi E, et al. Long-term stability of bevacizumab repackaged in 1mL polypropylene syringes for intravitreal administration. *Ann Pharm Fr*. 2012 May;70(3):139-54.