

Microbiologische validatie van de oogdruppelflacon met snap-cap: de casus acetylcysteïne oogdruppels 5 %

P.V. Nannan Panday, J. van der Heiden, J. Dillingh, R.J. Wijdh, J.G.W. Kosterink en R.C.A. Schellekens

Kernpunten

- Oogdruppels met snap-cap kunnen aseptisch op voorraad bereid worden, wat blijkt uit een adequaat kiemgetal en voldoende lage contaminatiegraad.
- De snap-cap sluit de flacon beter af dan een druppelopzet van polypropyleen of een druppelopzet met schroefdraad.
- Invriezen/ontdooien benadeelt de microbiologische kwaliteit niet.
- Ongeconserveerde acetylcysteïne oogdruppels kunnen op voorraad worden bereid en ingevroren.

Voor acetylcysteïne zijn diverse oogheelkundige indicaties beschreven, zoals keratoconjunctivitis sicca [1, 2], hoornvliesulcera [3-5], preventie van fotochemische schade tijdens intraoculaire chirurgie [6], bij beschadiging door brand en bij mechanische en chemische hoornvliesbeschadiging [7, 8]. Ondanks de vele indicaties is voor de oogheelkundige toepassing van acetylcysteïne geen handelsproduct geregistreerd in Nederland. Het wetenschappelijke bewijs van de werking is beperkt, gebaseerd op dierstudies en veelal gedateerd. Niettemin bestaat er goede klinische ervaring met de acetylcysteïne oogdruppel bij het oplossen van slijm in de traanfilm, met name bij patiënten met droge ogen [9, 10].

Gezien de rationele toepassing, de gebruiksomvang, een betere kwaliteitsgarantie van voorraadbereidingen in het algemeen, de kans op overgevoeligheidsreacties op conserveermiddelen [11] en de ervaring dat conserveermiddelen een remmende werking kunnen hebben op de heling van beschadigd epitheel [12, 13], is besloten een voorraadbereiding te ontwikkelen voor ongeconserveerde (acetylcysteïne) oogdruppels. Daar oogdruppels zonder conservering na aanbreken slechts een dag te gebruiken zijn, ligt het voor de hand een minim (polypropyleen) als verpakkingsvorm te kiezen. Een bereidingsfaciliteit voor minims is niet beschikbaar in het Universitair Medisch Centrum Groningen (UMCG). Polypropyleen is bovendien gasdoorlatend en acetylcysteïne ontleedt volgens een oxidatieve reactie. Daarom is in deze situatie gekozen voor een glazen oogdruppelflacon met een kunststof druppelopzet.

De microbiologische kwaliteit van deze oogdruppels na bereiden en tijdens bewaren, is complex door de inherente beperkingen van het product:

- een conserveermiddel ontbreekt;
- sterilisatie gedurende 15 minuten bij 121° C is niet mogelijk vanwege het ontstaan van waterstofsulfide [14, 15];
- tijdens en na bereiding van oogdruppels bestaat in het UMCG de ervaring dat lekkage optreedt bij zowel Sterilab-oogdruppelflacons met schroefdraad als BP-oogdruppelflacons met propyleen opzet. Hierdoor bestaat twijfel ten aanzien van de *closure integrity* tijdens bewaring.

Abstract

Objective

Change control study of formulation, preparation and shelf life for acetylcysteine 5 % eyedrops with a new dispenser, the snap-cap.

Design and Methods

With four microbiological tests a new dispenser for eyedrop bottles was investigated. For a growth promotion test, to establish ability and visibility of microbial growth, 10 eyedrop bottles were contaminated and visually compared to 10 controls after incubation. A closure integrity test compared eyedrop bottles with 10 snap-cap, 10 polypropylene and 10 screw thread dispensers, after heat treatment (30 min, 100° C) using a discoloration test, after storage (-20° C) and incubation for microbial growth. A bioburden count was done after simulating the production process (without heat treatment) and incubation at 35° C for 2 days. A simulation test established the sterility assurance level of the production process including storage (-20° C). A freezing-thawing-freezing cycle was added to test the integrity of the snap-cap dispenser.

Results

Before microbial contamination there was no visible growth. After contamination growth was visible, in contrast to the controls during and after incubation. None of the eyedrop bottles closed with snap-caps showed discoloration, in contrast to the other dispensers. The snap-cap dispenser maintained integrity, as there was no microbial growth detectable after incubation. After incubation no CFU's were detected with the bioburden count. No growth was detectable after incubation following production in the simulation test. After the freezing-thawing-freezing cycle the batch maintained sterility.

Conclusion

Changing to the snap-cap dispenser doesn't compromise aseptic bulk eyedrop production and is possible in accordance with GMP regulations. Snap-cap dispensers maintain sterility after heat treatment (30 min, 100° C) and storage at -20° C. Unpreserved acetylcysteine eyedrops can be produced with this process and stored in the freezer.

PW Wetenschappelijk Platform. 2007;1(1):16-21

Om de microbiologische kwaliteit van het product te verzekeren is een aantal maatregelen genomen. Conform de richtlijn van de EMEA [16] is gekozen voor een aseptische bereidingswijze met filtratie door een 0,2 mm filter. Ter bevordering van de microbiologische kwaliteit is een hitte-nabehandeling van 30 minuten bij 100° C aan het proces toegevoegd. Verder zijn de randvoorwaarden uit de eindrapportage van de Projectgroep Aseptische Bereidingen van de Nederlandse Vereniging van Ziekenhuisapothekers (NVZA) [17] in acht genomen. Essentieel is dat de verpakking de steriliteit waarborgt tijdens bewaren.

Recent is een nieuwe druppelopzet in de handel gekomen, de snap-cap. Deze zou door zijn sluitmechanisme minder kans op lekkage geven. Het bestaande bereidingsproces voor oogdruppels heeft zich in de loop der tijd bewezen (retrospectieve validatie). De introductie van de snap-cap wordt derhalve als een beperkte wijziging op een gevalideerd proces beschouwd. Dit artikel beschrijft de microbiologische aspecten van het *change control*-onderzoek en de procesvalidatie. De uitkomsten worden gebruikt voor een onderbouwde aanpassing van de oogdruppelbereiding.

Methoden

Materialen

Acetylcysteïne oogdruppels kunnen worden gemaakt uit de grondstof acetylcysteïne [15] of uit het handelsproduct Fluimucil (acetylcysteïne 200 mg/ml concentraat voor infusievloeistof, ZI-nummer 12558265). In het UMCG werd het handelsproduct Fluimucil gebruikt door dit te verdunnen met water voor injecties (Ph. Eur. IV; UMCG). Deze methode is verlaten vanwege de overdadige waterstofsulfidegeur, aanwezig in Fluimucil.

Voor dit onderzoek is geen acetylcysteïnebereiding gemaakt, maar een bereiding met glucose 5 % om het proces na te bootsen (*bioburden count*) en een simulatiebereiding met bouillon. In de toekomst zal de acetylcysteïnebereiding uit de grondstof gebeuren. Voor de kiemgetalbepaling werd een glucoseoplossing 5 % bereid (Ph. Eur. V; Ezem) in water voor injecties (Ph. Eur. IV; UMCG). Voor de simulatiebereidingen is tryptonsojabouillon gebruikt (TSB, Ph. Eur. IV; Oxoid).

De flacons zijn steriele Sterilab-oogdruppelflacons met snap-cap (10 ml, Blokland Medical Supplies, lot-nummer 512421). De flacons zijn van bruin glas hydrolytische klasse 1 en hebben een druppelaar van chloorbutylrubber. Ter vergelijking is gebruikgemaakt van de BP-oogdruppelflacon met een druppelopzet van polypropyleen (10 ml, Blokland Medical Supplies).

Voor het sluiten van de oogdruppelflacons is gebruikgemaakt van een borgsleutel voor Sterilab-flacons met schroefdraad, een handmatig sluitapparaat voor Sterilab-flacons met snap-cap en een elektronische doppenluiser voor BP-flacons met polypropyleen opzet (alle drie Blokland Medical Supplies).

Bereiding en bewaring

Gekozen is voor een hitte-nabehandeling van 30 minuten bij 100° C. Ook voor thermolabele stoffen, die niet bestand zijn tegen verhitting bij 121° C, is dit een toepasbare kiemreducerende hitte-nabehandeling [17]. De bewaarconditie is gesteld op -20° C, aangezien acetylcysteïne bij deze temperatuur gedurende een jaar chemisch voldoende stabiel blijft [15].

Groei-promotietest

Een groei-promotietest is uitgevoerd om vast te stellen of in oogdruppelflacons groei van aërobe micro-organismen mogelijk en visueel waarneembaar is. Met deze test wordt bepaald in hoeverre vals-negatieve uitslagen mogelijk zijn. 20 Sterilab-flacons met snap-cap werden gevuld met 5 ml TSB en gesloten met behulp van aseptische techniek in een LAF-kast in een cleanroom klasse C. De oogdruppelflacons werden gedurende 7 dagen geïncubeerd bij 25° C

en daarna 7 dagen bij 35° C. Hierna zijn 10 flacons actief beënt, respectievelijk met huid-, mond- of luchtflora. De overige 10 flacons zijn niet beënt en dienden als controle. Vervolgens werden de 20 flacons wederom geïncubeerd volgens de beschreven wijze.

Controle op integriteit van de sluiting

De integriteit van de sluiting van de oogdruppelflacons is onderzocht na belastende temperatuurwisselingen die relevant zijn voor bereiding respectievelijk bewaring en ontdooiing.

Na hitte-nabehandeling

Met aseptische techniek in een LAF-kast in een cleanroom klasse C zijn 10 Sterilab-flacons met schroefdraad, 10 Sterilab-flacons met snap-cap en 10 BP-flacons met polypropyleen opzet gevuld met 5 ml water voor injecties (Ph. Eur. IV; UMCG). Voor de hitte-nabehandeling is gecontroleerd of de oogdruppelopzet visueel recht op de oogdruppelflacons zat en er geen lekkage optrad.

Na de hitte-nabehandeling hebben alle oogdruppelflacons een kleurtest ondergaan. Hierbij werden de oogdruppelflacons ondergedompeld in een kleurbad bij een overdruk van 190 kPa gedurende 1 uur. Na de kleurtest is de inhoud per oogdruppelflacon overgebracht in een maatbeker en visueel gecontroleerd op verkleuring ten opzichte van een blanco (water voor injecties).

Na bewaring bij -20° C

In deze test is onderzocht of de oogdruppelverpakking bestand is tegen bewaring bij -20° C. Hierbij zijn de volgende aspecten onderzocht:

- mate van afsluiting van de oogdruppelopzet;
- integriteit van het glas (barst en breuk);
- kwaliteit van hechting op het glas en leesbaarheid van het etiket.

Met aseptische technieken in een LAF-kast in een cleanroom klasse C zijn 10 Sterilab-flacons met schroefdraad gevuld met 5 ml TSB en, na sluiten, ingevroren bij -20° C. Gedurende 4 weken zijn de ingevroren oogdruppelflacons om de 3 dagen volledig ontdooid en opnieuw ingevroren. De integriteit van het glas werd visueel gecontroleerd op breuken en/of barsten en lekkage. De mate van afsluiting van de oogdruppelopzet werd getest door deze te manipuleren. De kwaliteit van hechting op het glas en de leesbaarheid van het etiket werden gecontroleerd. Vervolgens zijn de oogdruppelflacons gedurende 7 dagen geïncubeerd bij 25° C en daarna 7 dagen bij 35° C.

Procesvalidatie aseptische voorraadbereiding

De microbiologische procesvalidatie van deze voorraadbereiding is uitgevoerd op basis van de aanpak zoals die is beschreven in de eindrapportage van de Projectgroep Aseptische Bereidingen van de NVZA [17].

Kiembelasting voor hitte-nabehandeling

Een kiemgetalbepaling voor hitte-nabehandeling werd uitgevoerd om na te gaan of de bereidingswijze voldoende waarborg biedt op steriliteit van het eindproduct. Daartoe werd een glucoseoplossing 5 % bereid, maar geen hitte-nabehandeling uitgevoerd.

Met aseptische technieken in een LAF-kast in een cleanroom klasse C werd 750 ml glucoseoplossing 5 % bereid en met een BAXA-pomp

Tabel 1**Resultaten groeipromotietest**

	7 dagen 25° C	7 dagen 35° C	Aantal flacons
Eerste incubatieperiode	geen groei	geen groei	20
Tweede incubatieperiode			
• huidflora	groei (na 2 dagen)	groei	3
• mondflora	groei (na 2 dagen)	groei	3
• luchtflora	groei (na 5 dagen)	groei	4
• controleflacons	geen groei	geen groei	10

na filtratie door een Whatman Polycap 0,2 mm filter (RVS) uitgevuld, per 5 ml in Sterilab-flacons met schroefdraad. Deze oogdruppelflacons werden niet afgesloten, maar de inhoud is per 50 oogdruppelflacons overgebracht in 3 steriele infuusflessen van 250 ml (glas klasse 1, Aluglas).

De kiemgetalbepaling is uitgevoerd in een LAF-kast met een ongeclassificeerde achtergrond. Het kiemgetal van de inhoud van de 3 infuusflessen is bepaald bij 35° C, volgens LNA-procedure S01-6 [18], met een afwijkende incubatieduur van 2 dagen.

De eis voor het kiemgetal is dat per 30 onderzochte flacons maximaal 1 flacon besmet mag zijn met 1 kolonievormende eenheid (KVE) voor een aseptische bereiding met hitte-nabehandeling van 30 minuten bij 100° C om een contaminatiekans van 1:1000 te kunnen garanderen [17].

Contaminatiegraad na bereiden

Een simulatiebereiding werd uitgevoerd om de steriliteit van de aseptische voorraadbereiding van oogdruppels in de eindverpakking na te gaan [19, 20]. De eis voor een simulatiebereiding is een contaminatiegraad van minder dan 0,1 % met een 95 %-betrouwbaarheidsinterval conform Annex 1 van de EU Guide to GMP [21]. In deze simulatiebereiding is de bereiding uitgevoerd met TSB, gevolgd door de hitte-nabehandeling. Met behulp van aseptische technieken in een LAF-kast in een cleanroom klasse C werden steriele Sterilab-flacons met snap-cap met de BAXA-pomp en na filtratie door een Whatman Polycap-0,2 mm filter (RVS) gevuld met 5 ml TSB, en na sluiting nabehandeld gedurende 30 minuten bij 100° C. De charge-grootte is gelijk aan die van een reguliere geneesmiddelenvoorraadbereiding, conform de eisen gesteld in Annex 1 van de EU Guide to GMP [21] en de Pharmaceutical Inspection Convention/Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme [20]. De oogdruppelflacons zijn gedurende zeven dagen geïncubeerd bij 25° C en daarna zeven dagen bij 35° C. Het bestaande bereidingsproces van oogdruppels is gevalideerd (retrospectieve validatie). Door de introductie van de snap-cap-oogdruppelverpakking zal het proces niet wezenlijk wijzigen. De procesvalidatie moet dan ook als een *ongoing* simulatietest worden beschouwd, waarmee een minder kritische wijziging gevalideerd wordt. Conform de PIC/S-guideline is één simulatietest dan voldoende. Ter aanvulling en kennisontwikkeling is ervoor gekozen tevens de kiemgetalbepaling uit te voeren.

Bewaring bij -20° C

De test beschreven onder *Controle op integriteit van de sluiting* werd herhaald met de Sterilab-flacons met snap-cap die gebruikt zijn voor de simulatiebereiding. In deze test werd de charge gedurende 2 weken ingevroren bij -20° C en om de 2 dagen gedurende 1 dag volledig ontdooid en gecontroleerd, en opnieuw ingevroren. Vervolgens werden de oogdruppelflacons gedurende 7 dagen geïncubeerd bij 25° C en daarna 7 dagen bij 35° C.

Resultaten**Groeipromotietest**

De resultaten van de groeipromotietest zijn weergegeven in tabel 1. Na de eerste incubatieperiode van 14 dagen (voor beënting) was in de 20 flesjes geen groei waarneembaar. Tijdens de tweede incubatieperiode van 14 dagen, na beënting, was in de met huid- en mondflora beënte flacons na 2 incubatiedagen groei waarneembaar in de vorm van vertroebeling en kolonievorming. In de met lucht beënte flesjes duurde dit een aantal dagen langer. De andere 10 controleflacons vertoonden geen groei gedurende de incubatieperiode.

Controle op integriteit van de sluiting**Na hitte-nabehandeling**

De resultaten van de kleurtest na hitte-nabehandeling zijn weergegeven in tabel 2. Tijdens de bereiding bleek het bevestigen van bepaalde druppelopzetten soms lastig te zijn. Bij de desbetreffende oogdruppelflacons bleek de inhoud na de kleurtest verkleurd te zijn. De oogdruppelflacons waarbij het sluiten zonder problemen verliep, vertoonden geen verkleuring en bleken goed gesloten te zijn.

Na bewaring bij -20° C

Gedurende de 4 weken waarin de oogdruppelflacons werden ingevroren, ontdooid en opnieuw ingevroren, bleek de integriteit van de oogdruppelverpakking en het etiket te voldoen. Er waren geen breuken en/of barsten in het glas te constateren, de afsluiting van de oogdruppelopzet was goed, het etiket was goed leesbaar en hechtte voldoende aan de flacon. Gedurende de incubatieperiode werd geen groei geconstateerd.

Tabel 2**Resultaten kleurtest na hitte-nabehandeling**

	Aantal flacons	Niet verkleurd	Verkleurd
Oogdruppelflacons met schroefdraad	10	8	2 (opzet zat schuin op flacon)
Oogdruppelflacons met snap-cap	10	10	0
Oogdruppelflacons met polypropyleen opzet	10	6	4 (sluiten met opzet lukte na aantal keren)

Procesvalidatie van de aseptische voorraadbereiding*Kiembelasting voor hitte-nabehandeling*

De volumina in de 3 infuusflessen die gebruikt zijn voor de bepaling van de kiembelasting waren respectievelijk 250, 245 en 210 ml glucose 5 %, corresponderend met respectievelijk 50, 49 en 42 oogdruppelflacons. Na 3 incubatiedagen werd voor alle containers een kiemgetal van 0 KVE gevonden.

Contaminatiegraad na bereiden

In de charge van 218 Sterilab-flacons met snap-cap bleek na de incubatieperiode, direct na bereiding en hitte-nabehandeling, geen groei waarneembaar. Gedurende de 2 weken waarin de oogdruppelflacons om de 2 dagen werden ingevroren, ontdooid en opnieuw ingevroren, waren er geen afwijkingen in de integriteit van de oogdruppelverpakking en de sluiting te constateren. Tijdens en na de incubatieperiode die na deze test volgde, werd wederom geen groei waargenomen in de oogdruppelflacons.

Beschouwing

In dit artikel zijn drie farmaceutisch-microbiologische tests gepresenteerd. Deze vormen een onderdeel van het ontwikkelingsproces van de aseptische voorraadbereiding van acetylcysteïne-oogdruppels.

Groei-promotietest

TSB is een voedingsmedium dat gebruikt kan worden voor de groei van aërobe en facultatief anaërobe bacteriën en enkele fungi [22]. In de *Europese farmacopee* wordt een groei-promotietest voor media beschreven in de monografie *Test for sterility*. Hierbij wordt gebruikgemaakt van gedefinieerde micro-organismen (ATCC-stammen) in een gedefinieerde hoeveelheid (niet meer dan 100 KVE). In de groei-promotietest van dit onderzoek is gebruikgemaakt van de humane flora die aanwezig is op de huid en in het mondspeeksel. Verder is de flora gebruikt die aanwezig is in lucht. In kwalitatieve en kwantitatieve zin is daarmee de toegepaste contaminatie minder goed gedefinieerd. De resultaten van de eerste incubatieperiode tonen aan dat het TSB-groeimedium steriel is en dat in de oogdruppelflacons geen microbiële contaminatie aanwezig is. De resultaten van de tweede incubatieperiode geven aan dat alleen na beënting visueel zichtbare groei aanwezig is. Dit toont aan dat het TSB-medium groeibevorderende eigenschappen heeft en dat microbiële

groei mogelijk en visueel waarneembaar is in oogdruppelflacons. TSB-medium is op basis hiervan geschikt bevonden als medium om de procesvalidatie van de aseptische voorraadbereiding van oogdruppels uit te voeren. Een mogelijke verklaring voor de vertraagd optredende microbiële groei na beënting met luchtflora is de lage contaminatiegraad van lucht [23] in vergelijking met de andere 'bronnen'. Hierdoor duurt het langer voordat de micro-organismen de drempel van zichtbaarheid hebben overschreden.

Controle op integriteit van verpakking en sluiting*Hitte-nabehandeling*

De kritische processtap in dit deel van het bereidingsproces vormt het sluiten van de oogdruppelflacons met de oogdruppelopzet. Onvoldoende sluiting kan leiden tot microbiële contaminatie en invloed hebben op de chemische stabiliteit door bijvoorbeeld luchtoxidatie.

Het aandraaien van een chloorbutylrubber druppelaar op Sterilab-flacons met een borgsleutel vereist inspanning en blijkt in de praktijk te kunnen leiden tot het schuin vastzetten ervan. Het vastzetten van een polypropyleen opzet op BP-flacons met een elektronische doppensluiters is eenvoudiger, maar bij het aandraaien grijpt de doppensluiters niet altijd goed aan op de polypropyleen opzet. De polypropyleen opzet sluit dan niet voldoende aan op de oogdruppelflacon. Het sluiten van de Sterilab-flacons met snap-cap met het handmatige sluitapparaat gaat eenvoudig, waarbij de oogdruppelopzet recht op de flacon wordt geklikt. Maar ondanks het ogenschijnlijk goed gesloten zijn van Sterilab-flacons, kan een hitte-nabehandeling de integriteit van een goede sluiting van oogdruppelopzetten op oogdruppelflacons nadelig beïnvloeden. Daarom wordt een controle op integriteit van de sluiting geadviseerd na de hitte-nabehandeling in de autoclaaf. De Food and Drug Administration beschrijft hoe een sterilitest als controle op de integriteit van de sluiting kan worden uitgevoerd [24]. Vanwege een aantal beperkingen van de sterilitest is daarin de kleurtest als een adequaat alternatief genoemd. Deze methode past het UMCG al jarenlang toe als controle op microlekages van ampullen. Bij de kleurtest na hitte-nabehandeling verkleurde de inhoud van die flacons waarbij de oogdruppelopzet onvoldoende sloot, en waar dus contaminatie mogelijk is. Als oogdruppelflacons goed gesloten zijn, is de steriliteit tijdens bewaren gewaarborgd.

Bewaring bij -20° C

Een belangrijke voorwaarde voor het invriezen van oogdruppels is de integriteit van verpakking en sluiting tijdens de gestelde bewaartermijn. Met deze test werden de oogdruppelflacons onderworpen aan stresscondities. Hiermee kan in een korter tijdsbestek een inschatting worden gemaakt van de sluitingsintegriteit; zeker als gebruikgemaakt is van een oplossing met groeibevorderende eigenschappen (in dit geval TSB). Uit het onderzoek blijkt dat de integriteit van de oogdruppelverpakking en de kwaliteit van het etiket tijdens herhaaldelijk ontdooien en opnieuw invriezen bij -20° C behouden blijven. Aangezien microbiële groei tijdens en na incubatie niet is opgetreden, is aangetoond dat invriezen van oogdruppelflacons mogelijk is en dat daarbij de steriliteit van de inhoud niet gecompromitteerd wordt.

Procesvalidatie van de aseptische voorraadbereiding

Kiembelasting voor hitte-nabehandeling

Bij aseptische bereidingen die een hitte-nabehandeling van 30 minuten 100° C ondergaan, dient een aantal voorzorgen in acht genomen te worden [17]. Een van die voorzorgen binnen het bereidingsproces is een kiembelasting van minder dan 0,1 KVE per container vóór hitte-nabehandeling. Dit kan met 95 % betrouwbaarheid worden vastgesteld indien van 30 onderzochte containers er ten hoogste 1 besmet is met 1 KVE. Om de kans op vals-positieve uitslagen ten gevolge van contaminatie bij uitvoering van de kiemgetalbegaling te beperken, werd gewerkt in een LAF-kast. De incubatieduur is korter dan de 7 dagen die LNA-procedure S01-6 adviseert [18]. Volgens Ph. Eur. methode 2.6.12 *Total viable aerobic count* is een incubatieduur van 5 dagen of korter mogelijk, mits in het laatste geval het kiemgetal betrouwbaar kan worden bepaald. In het UMCG is een incubatieduur van 2 dagen in de procedures vastgelegd. Eventuele langzaam groeiende bacteriën of subleetaal beschadigde bacteriën zouden na 2 dagen nog niet zichtbaar kunnen zijn en bij 5 dagen incuberen wel. Opgemerkt moet worden dat de *Europese farmacopee* vermeldt dat zelfs bacteriën die subleetaal beschadigd zijn, zich herstellen in 2-5 uur [Ph. Eur. 2.6.13] in een geschikt medium en daarna zich reeds kunnen gaan vermenigvuldigen.

De kiemgetalbegaling voor hitte-nabehandeling is uitgevoerd met een charge van 141 oogdruppelflacons, hetgeen vergelijkbaar is met de chargegrootte van een reguliere oogdruppelvoorraadbereiding. Bij bepaling van het kiemgetal in het kader van een procesvalidatie zijn de volgende praktische aspecten te noemen waarmee de apotheker rekening dient te houden.

- De procesvalidatie geldt voor een gedefinieerd bereidingsproces voor oogdruppels en is niet productspecifiek.
- De oplossing waarmee het bereidingsproces gesimuleerd wordt, heeft geen intrinsieke antimicrobiële eigenschappen.
- De bepaling van het kiemgetal op monsters van 5 ml is bewerkelijk en minder betrouwbaar (door de vele handelingen) dan de bepaling van een beperkter aantal monsters met een groter volume.
- De simulatiebereiding heeft ten minste een even groot contaminatierisico als de reguliere oogdruppelbereiding.

Een simulatiebereiding met glucose 5 %, die na uitvullen wordt

gepooled tot 3 monsters van ongeveer 250 ml, voldoet aan bovenstaande criteria. Er werden geen KVE's aangetoond na de gestelde incubatieperiode. Met de toegepaste bereidingswijze wordt voldaan aan een contaminatiegraad van minder dan 0,1 KVE per container voor hitte-nabehandeling.

Contaminatiegraad na bereiden

Het bepalen van de contaminatiegraad van een simulatiebereiding geeft minder kans op vals-positieven, aangezien er geen manipulatie plaatsvindt zoals tijdens de kiemgetalbegaling. Deze test is wel minder informatief, aangezien microbiële groei een contaminatie met ≥ 1 KVE inhoudt. Het verdient derhalve aanbeveling deze test in een procesvalidatie te combineren met een kiemgetalbegaling vóór hitte-nabehandeling.

De simulatiebereiding is uitgevoerd met een chargegrootte van 218 oogdruppelflacons. Volgens de richtlijnen van de PIC/S [20] en van GMP [21] wordt de simulatiebereiding verricht met een chargegrootte die ten minste gelijk is aan die van een reguliere geneesmiddelenbereiding. Indien deze minder dan 3000 eenheden bedraagt, dient elke positieve uitslag als een overschrijding van de actielimiet behandeld te worden.

Er is zowel direct na de simulatiebereiding als na bewaring bij -20° C geen microbiële groei geconstateerd. Dit houdt in dat met de huidige bereidingswijze en gebruikte oogdruppelverpakking is voldaan aan de gestelde eis van een contaminatiegraad van minder dan 0,1 % (95 %-betrouwbaarheid).

Als de bereiding routinematig in de ziekenhuisapothek uitgeoefend gaat worden, verdient het aanbeveling iedere bereider te kwalificeren voor het uitvoeren van deze aseptische bereiding, aangezien het een handmatig bereidingsproces betreft. Als het ware wordt iedere bereider als een afzonderlijk deel van het productiesysteem beschouwd [25].

Conclusie

Met dit onderzoek is aangetoond dat de druppelopzet van oogdruppelflacons gewijzigd kan worden. Oogdruppels kunnen aseptisch op voorraad bereid worden (inclusief hittebehandeling 30 minuten bij 100° C) conform GMP-regelgeving. Dit blijkt uit een adequaat kiemgetal voorafgaand aan autoclaveren, alsmede een voldoende lage contaminatiegraad na een volledig bereidingsproces inclusief hittebehandeling. De snap-cap blijkt de flacon beter af te sluiten in de kleurtest dan de polypropyleen druppelopzet en de schroefdraad druppelopzet. Na herhaald invriezen en ontdooien (stresscondities) zijn geen nadelige effecten waarneembaar op de microbiologische kwaliteit van oogdruppels bereid in flacons met snap-cap-druppelopzet. Ook verpakking en etiket verminderen na invriezen niet in kwaliteit en/of leesbaarheid.

Ongeconserveerde acetylcysteïne oogdruppels kunnen met dit bereidingsproces op voorraad bereid worden en in de diepvries bewaard, de snap-cap waarborgt de steriliteit.

P.V. Nannan Panday: ziekenhuisapotheker in opleiding; J. van der Heiden en J. Dillingh: apothekers Bereidingen; J.G.W. Kosterink: ziekenhuisapotheker, hoofd Apotheek; R.C.A. Schellekens: ziekenhuisapotheker, hoofd afdeling Bereidingen; Apotheek Universitair Medisch Centrum Groningen.

R.J. Wijdh: oogarts, Afdeling Oogheelkunde, Universitair Medisch Centrum Groningen.

Correspondentie: P.V. Nannan Panday, p.n.panday@apoth.umcg.nl.

LITERATUUR

- 1 Rice NSC, Jones BR. Vernal kerato-conjunctivitis: an allergic disease of the eyes of children. *Clin Allergy*. 1973;3(Suppl):629-37.
- 2 Absolon MJ, Brown CA. Acetylcysteine in kerato-conjunctivitis sicca. *Br J Ophthalmol*. 1968;52(4):310-6.
- 3 Berman MB. Collagenase inhibitors: rationale for their use in treating corneal ulceration. *Int Ophthalmol Clin*. 1975;15(4):49-66.
- 4 Lemp MA. Cornea and sclera. *Arch Ophthalmol*. 1976;94:473-90.
- 5 Walters MT, Rubin CE, Keightley SJ, et al. A double-blind, cross-over, study of oral N-acetylcysteine in Sjogren's syndrome. *Scand J Rheumatol Suppl*. 1986;61:253-8.
- 6 Busch EM, Gorgels GT, Robert JE, et al. The effects of two stereoisomers of N-acetylcysteine on photochemical damage by UVA and blue light in rat retina. *Photochem Photobiol*. 1999;70(3):353-8.
- 7 Aldavood SJ, Behyar R, Sarchahi AA, et al. Effect of acetylcysteine on experimental corneal wounds in dogs. *Ophthalmic Res*. 2003;35(6):319-23.
- 8 Castillo M, Bellot JL, Garcia Cabanes C, et al. Effects of hypoxia on retinal pigmented epithelium cells: protection by antioxidants. *Ophthalmic Res*. 2002;34(6):338-42.
- 9 Williamson J, Doig WM, Forrester JV, et al. Management of the dry eye in Sjogren's syndrome. *Br J Ophthalmol*. 1974;54:798-805.
- 10 Pokupec R, Petricek I, Sikic J, et al. Comparison of local acetylcysteine and artificial tears in the management of dry eye syndrome. *Acta Med Croatica*. 2002;59(4):337-40.
- 11 Chiambaretta F, Pouliquen P, Rigal D. [Allergy and preservatives. Apropos of 3 cases of allergy to benzalkonium chloride]. *J Fr Ophthalmol*. 1997;20(1):8-16.
- 12 Cha SH, Lee JS, Oum BS, et al. Corneal epithelial cellular dysfunction from benzalkonium chloride (BAC) in vitro. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2004;32(2):180-4.
- 13 Noecker RJ, Herry LE, Anwaruddin R. Corneal and conjunctival changes caused by commonly used glaucoma medications. *Cornea*. 2004;23(5):490-6.
- 14 Acetylcystein. In: Dolder R, Skinner FS. *Ophthalmika. Pharmakologie, Biopharmazie und Galenik der Augenarzneimittel*. 4e ed. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; 1990.
- 15 Acetylcysteïne-oogdruppels 5 % LNA. LNA mededeling. Den Haag: WINAP; 2005. Kombirom. Geraadpleegd april 2005.
- 16 Decision trees for the selection of sterilisation methods. CPMP/QWP/054/98. London: EMEA; 2000. www.emea.europa.eu/pdfs/human/qwp/005498en.pdf. Geraadpleegd april 2005.
- 17 Eindrapportage projectgroep aseptische voorraadbereidingen, versie 10 - 200511. Den Haag: NVZA; 2005. www.nvza.nl/kr_nvza/uploaddb/download_object.asp?atoom=7568&VolgNr=72. Geraadpleegd 6 april 2006.
- 18 Kiemgetalbevestiging waterige oplossingen vóór sterilisatie. LNA procedure S01-6, versie 1/0704. Den Haag: WINAP; 2004. Kombirom. Geraadpleegd april 2005.
- 19 GMP-Z. Annex 3. Aseptische handelingen. Versie februari 2005. Den Haag: KNMP/NVZA; 2005.
- 20 Recommendation on the validation of aseptic processes. PIC/S PI 007-2. Genève: Pharmaceutical Inspection Convention; 2004.
- 21 EC guide to good manufacturing practice. Annex 1. Manufacture of sterile medicinal products. Brussel: Europese Commissie. pharmacos.eudra.org/F2/eudralex/vol-4/pdfs-en/revan1vol4_3.pdf. Geraadpleegd april 2006.
- 22 Oxoid product detail Tryptone Soya Broth (USP). Basingstoke: Oxoid. www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0876&c=UK&lang=E N. Geraadpleegd 6 april 2006.
- 23 Van Doorne H, Bakker JH, Meevis RF, et al. Influence of background air on microbial contamination during simulated i.v.-admixture preparation. *J Clin Pharm Ther*. 1994;19(3):181-7.
- 24 Guidance for industry. Container and closure integrity testing in lieu of sterility testing as a component of the stability protocol for sterile products (draft guidance). Rockville: FDA Center for Biologics Evaluation and Research; 1998. www.fda.gov/cber/gdlns/contain.htm. Geraadpleegd april 2006.
- 25 Agalloco JP, Akers JE. Validation of aseptic processing. In: Carleton FJ, et al, red. *Validation of pharmaceutical processes. Sterile products*. 2de ed. New York: 1999. p. 690-1.

NEDERLANDS FARMACEUTISCH ONDERZOEK IN DE INTERNATIONALE LITERATUUR

Zijn de medicatiegegevens bij de trombosedienst up-to-date?

Marcel Bouvy

Het Nederlandse systeem van trombosediensten is uniek in de wereld. Voor een goede bewaking door de trombosedienst is het van belang dat men op de hoogte is van de actuele medicatie die de patiënt gebruikt. Onderzoekers van de Universiteit Utrecht onderzochten in welke mate de medicatiegegevens bij de trombosedienst overeenstemden met de gegevens zoals die bekend waren bij de openbare apotheek van de patiënt. Bij 174 patiënten werden in de medicatiehistorie in de apotheek 117 geneesmiddelen aangetroffen die kunnen interageren met anticoagulantia. Van deze middelen waren 32 (27 %) niet bekend bij de trombosedienst. Het merendeel betrof middelen met een farmacodynamische interactie, zoals NSAID's (10), acetylsalicylzuur (5) en SSRI's (2). De trombosedienst was ook niet op de hoogte van 7 middelen met een belangrijke farmacokinetische interactie, zoals co-trimoxazol (2) en amiodaron (2). Bij 4 van de 7 patiënten die de laatste groep middelen gebruikten, werden INR-waarden aangetroffen buiten het therapeutische

venster. De onderzoekers wijzen erop dat extra inspanningen van apothekers en trombosediensten nodig zijn om de actuele gegevens over medicatiegebruik bij de trombosedienst te verbeteren. Het onderzoek had betrekking op de periode 1998 tot 2002. In deze periode werd ook de gezamenlijke richtlijn *Afhandeling van interacties met anticoagulantia* opgesteld (www.fnt.nl). Het is voorstelbaar dat de implementatie van deze richtlijn enige tijd geeft geduurd en dat de situatie ondertussen verbeterd is. Anderzijds toont recent onderzoek van de Consumentenbond aan dat de afhandeling van de belangrijke interactie van co-trimoxazol met anticoagulantia bij passanten nog altijd te verbeteren valt.

Schalekamp T, Smit C, van Geest-Daalderop JH, de Vries-Goldschmeding H, de Boer A. Discrepancies between medication records of anticoagulation clinics and pharmacy records. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2006;15:823-8.