



ORIGINALES

Artículo bilingüe inglés/castellano

Microbiological quality of pediatric oral liquid formulations

Calidad microbiológica de las formulaciones orales líquidas pediátricas

M.^a José Cabañas Poy¹, Carme Cañete Ramírez¹, Sabina X González di Lauro², Virginia Rodríguez Garrido², Gloria Roig Carbajosa², Aurora Fernández-Polo¹ and Susana Clemente Bautista¹

¹Servei de Farmàcia, Àrea Maternoinfantil. ²Servei de Microbiologia i Parasitologia Clíniques. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona. Spain.

Abstract

The oral administration of drugs to the pediatric population involves the extemporaneous preparation of liquid formulations. These formulations have studies on their physicochemical stability, but they often lack microbiological studies. The objective of this study is to check the microbiological quality of five oral liquid formulations prepared with different excipients, which represent five major combinations, in two conditions: kept unopened until the day of the test, and in a multi-dose vial opened daily. The formulations were prepared according to standard operating procedures. Half of each batch was packaged in vials that remained closed until the day of testing, and the other half in a single container which was opened daily. Both the vials and the containers had been previously sterilized. Microbiological tests were performed weekly during the first month of the study, and then every two weeks, until the expiration date. The microbiological quality of oral liquid formulations is determined by the Royal Spanish Pharmacopoeia. The conclusion was that none of the formulations prepared that were packaged in sterilized containers became contaminated, either in unopened vials or in multi-dose containers when they were opened daily.

KEYWORDS

Stability; Contamination; Sterility; Formulation; Paediatrics

Farm Hosp. 2016;40(5):427-435

Resumen

La administración oral de fármacos a la población pediátrica implica la preparación de fórmulas líquidas extemporáneas. Estas fórmulas tienen estudios de estabilidad fisicoquímica pero en muchas ocasiones carecen de estudios microbiológicos. El objetivo del estudio es comprobar la calidad microbiológica de cinco fórmulas orales líquidas, preparadas con diferentes excipientes, que representan mayoritariamente cinco combinaciones, en dos condiciones: conservadas sin abrir hasta el día del análisis y abriendo diariamente el envase multidosis. Se prepararon las fórmulas según los procedimientos normalizados de trabajo. La mitad del lote de cada fórmula se envasó en viales que estuvieron cerrados hasta el día del análisis y la otra mitad en un solo frasco que se abrió diariamente. Tanto los viales como los frascos para el envasado estaban esterilizados previamente. El análisis microbiológico se realizó cada semana durante el primer mes de estudio y después cada dos semanas hasta llegar al periodo de caducidad. La calidad microbiológica de las fórmulas orales líquidas viene marcada por la Real Farmacopea Española. Se concluye que ninguna de las fórmulas elaboradas envasadas en contenedores esterilizados se contaminó ni en los viales cerrados ni en los frascos multidosis cuando se abrieron diariamente.

PALABRAS CLAVE

Estabilidad; Contaminación; Esterilidad; Formulación; Pediatría

Farm Hosp. 2016;40(5):427-435

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mjcabana@vhebron.net (M.^a José Cabañas Poy).

Recibido el 12 de abril de 2016; aceptado el 13 de junio de 2016.

DOI: 10.7399/fh.2016.40.5.10541



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:
Articles published in this journal are licensed with a:
Creative Commons Attribution 4.0.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista Farmacia Hospitalaria no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

Contribution to Scientific Literature

This is the first study that addresses exclusively the microbiological stability of five types of paediatric oral liquid formulations. There are publications about the physicochemical stability of liquid formulations, but microbiological stability has only been addressed as a secondary aspect.

The outcomes of this study and our own experience can encourage other Hospital Pharmacy Units to conduct research on the microbiological quality of the formulations they prepare. We believe that it is important to publish these articles, in order to inform about some work procedures that can be extrapolated to Pharmaco-technology areas, with the aim to improve the microbiological quality of oral liquid formulations.

Introduction

The paediatric population requires modifications or adaptations of solid pharmaceutical products, tablets or capsules, in order to achieve dose individualization and facilitate oral administration. The preparation by the Pharmacist of liquid formulations allows an accurate dose measurement, which must be frequently modified according to weight.

Aqueous solutions and suspensions are more unstable from a physicochemical and microbiological point of view than solid formulations, and require stability tests after their preparation in order to determine their time of validity. Even though physicochemical validity is an aspect widely studied within magistral formulations, this is not the same for the microbiological aspect¹. The contamination of non-sterile formulations can reduce or inactivate the therapeutic activity of the drug, or even lead to drug toxicity that can affect the patient's health. On the other hand, the ingestion of pathogenic microorganisms could originate particularly severe infections in newborns and immunodepressed patients.

In order to prepare a liquid formulation, it is required to have an active ingredient, which comes from a pharmaceutical product or raw materials, as well as excipients providing physicochemical and microbiological stability, and offering acceptable organoleptic characteristics. In order to avoid the proliferation of microorganisms, preservatives are frequently added on, particularly in the case of multi-dose preparations.

It is very important to determine the microbiological validity of multi-dose formulations that will be opened and closed very frequently during their period of physicochemical validity. Thus the importance of meeting the quality assurance rules by the Royal Spanish Pharmacopoeia, which sets some limitations. The criteria for acceptance of the microbiological quality of aqueous oral non-sterile formulations are: 10² CFUs in the total count of aerobic microorganisms (maximum number accepta-

ble: 200) 10¹ CFUs in the total count of yeasts and molds (maximum number acceptable: 20), and lack of *Escherichia coli* in 1 g or 1 ml²⁻⁴.

Previous Study

For selecting the formulations to be tested, the standard liquid formulations in the Pharmacotechnology Area of the *Hospital Vall d'Hebron* Pharmacy Unit were classified according to type of excipients. Five formulations were selected, which represent the potential combinations between them. Some contain preservatives (Ora Sweet[®], Ora Plus[®], National Formulary (NF) syrup and plain syrup), while others do not (methylcellulose 1%).

Table 1 shows the composition of the formulations representing each type of excipients, and their storage requirements and expiration dates.

Once the formulations had been selected, and taking into account the period of validity of each, a work schedule was designed. A weekly microbiological test would be conducted during the first month of validity. From then on, tests were conducted every two weeks, until the date of expiration for each formulation. Throughout the period studied, the formulations were stored under the conditions recommended for the validity period. The work schedule appears in table 2.

The objective was to assess the microbiological stability during the period of physicochemical validity of five multi-dose liquid formulations that represent five types of vehicles prepared under controlled conditions and packaged in sterile vials. The study determined if there was any microbiological contamination of the formulation when not handled during the period of validity, and also when the vial was opened and closed every day until its expiration date, in a simulation of their conditions of use. This was intended to confirm if the type of excipient leads to the contamination of the formulation when prepared and packaged in the conditions previously described.

Methods

This study was conducted in the Maternity and Child Area of the Pharmacy Unit and in the Microbiology and Parasitology Lab of the *Hospital Universitario Vall d'Hebron* between June and September, 2015.

Formulation Preparation

The preparation of solutions and suspensions was conducted according to the rules for adequate preparation of magistral formulations⁵.

A batch of each formulation was prepared following the relevant Standard Operating Procedure (SOP). Thus, 250 ml of ursodeoxycholic acid suspension and caffeine solution were prepared, as well as 125 ml of spironolactone suspension and atenolol, and 120 ml of propranolol

Table 1. Composition of magistral formulations, storage requirements, and expiration dates

Formulation	Composition		Storage requirements and expiration dates
Atenolol 2 mg/ml suspension	Per 100 ml:		Fridge - 28 days
	Atenolol 50 mg tablets	4 tablets	
	Glycerine	4 ml	
Caffeine citrate 20 mg/ml solution	Per 100 ml:		Fridge - 90 days
	Caffeine citrate	2 g	
	Sterile distilled water	50 ml	
	Plain syrup with preservatives (nipagin and nipasol bases)	50 ml	
Spironolactone 5 mg/ml suspension	Per 120 ml:		Fridge - 56 days
	Aldactone 25 mg tablets	24 tablets	
	Ora Plus®	60 ml	
Propranolol 1 mg/ml suspension	Per 120 ml:		Fridge - 45 days
	Sumial 40 mg tablets	3 tablets	
	Monohydrate citric acid	0.125 mg	
	Sterile distilled water	3 ml	
	Plain syrup with preservatives (nipagin and nipasol bases)	117 ml	
Ursodeoxycholic 20 mg/ml suspension	Per 100 ml:		Fridge - 90 days
	Ursodeoxycholic acid	2 g	
	Methylcellulose 1%	50 ml	
	Syrup NF (nipagin and nipasol sodium)	50 ml	

Table 2. Work schedule

	T = 0d	T = 7d	T = 14d	T = 21d	T = 28d	T = 42d	T = 56d	T = 70d	T = 91d
Atenolol 2 mg/ml susp	x	x	x	x	x				
Caffeine citrate 20 mg/ml sol	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Spironolactone 5 mg/ml susp	x	x	x	x	x	x	x		
Propranolol 1 mg/ml susp	x	x	x	x	x	x			
Ursodeoxycholic 20 mg/ml susp	x	x	x	x	x	x	x	x	x

suspension. Half of the volume prepared (sample) was packaged in a 125 ml topaz glass multi-dose vial, with a shutter and a stopper with first-opening indicator. The other half of the volume prepared (control) was packaged in 10 ml topaz vials, with rubber lids and plate caps, that were kept closed until testing day. All vials were stored in the fridge.

Every day, the sample vials were removed from the fridge, left to warm up, the suspensions were shaken for homogenization, and they were left opened for at least 5 minutes and maximum 30 minutes.

On testing day, approximately 10 ml of preparation was extracted from the sample vial, packaged in a topaz

vial, and closed with a rubber lid and an aluminium cap. The sample vial and one of the control vials were then microbiologically tested.

During the whole process, the rules for correct preparation were followed, as currently used in the Pharmaco-technology Area of the Pharmacy Unit. The equipment used for formulation preparation was washed according to the SOP, and the final rinse was made with highly purified (deionized) water. All packaging materials were sterilized (the vial, shutter, and lid with first-opening-indicator, and the vials, rubber stoppers and aluminium caps), as an extra procedure in order to minimize the biological burden.

Microbiological Assay

In order to determine whether the formulations met the criteria for acceptance of microbiological quality, the procedures indicated by the Royal Spanish Pharmacopoeia were followed, regarding microbiological control of non-sterile products (count tests of microbes and specified microorganisms)^{2,3}. Fertility and sterility tests were conducted (both with and without the product to be tested). Each test was conducted in duplicate. The microorganisms researched were mesophyll bacteria and fungi.

For the fertility test without the product, ATCC strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas Aeruginosa* were used. Starting with a known concentration of 1.5×10^2 CFU/ml in TSB (Tryptic Soy Broth), the pouring plate method was used in a PCA (Plate Count Agar) medium for *S. aureus*. In order to spread the McConKey agar medium (*E. coli* y *P. aeruginosa*), the spread-plate technique was used with Digirsky loops.

The sterility test was conducted with 1 ml of TSB spread in PCA, McConkey broth and Sabouraud agar.

The fertility test with product was conducted starting with a 1/10 syrup dilution, adding the ATCC strain in a dilution of 1.5×10^4 CFU/ml, and spread in the media previously described for the fertility test.

Finally, the test for product sterility was conducted by preparing a 1/10 dilution of the product to be tested in TSB broth. 1 ml of this dilution was spread in PCA agar, Sabouraud agar, and McConkey broth.

For each test, the McConkey broths and plates and the PCA plates were incubated at between 35 and 37°C during 48 hours; while the Sabouraud agar plates were incubated at between 20 and 25°C during 5 days. The former were observed every day, while the latter were examined at the third and fifth days, looking for any growth.

Outcomes and Discussion

Our outcomes show that there was no microbiological growth in any of the cultures during the period of the study. None of the samples of the formulations extracted from the multi-dose vials or any of the control vials were contaminated during the period of validity. The controls used were adequate for assessing the technique.

The type of excipient did not alter the contamination pattern of oral liquid formulations prepared under controlled conditions and packaged in sterile vials.

The spironolactone 5 mg/ml suspension used Ora Sweet[®] and Ora Plus[®] (1:1) in its formulation, and contained parabens as preservatives. The propranolol 1 mg/ml suspension was prepared exclusively with plain syrup with parabens. In these two situations, the vehicle osmolarity and the presence of preservatives favoured the lack of contamination.

The oral 20 mg/ml caffeine citrate solution was prepared with a fifty-fifty proportion of plain syrup without preservatives and sterile water, and the concentration of sugar and preservatives was reduced by half in the final preparation. The case of the 20 mg/ml ursodeoxycholic acid suspension was very similar to the previous one, because the 1% methylcellulose suspension does not contain any preservatives.

The plain syrup preservatives used in our study were nipagin and nipasol bases, at a 0.02% and 0.01% concentration (P/V) respectively; and for NF syrup, sodium nipagin and nipasol at a 0.06% and 0.03% concentration (P/V)(in bases form) respectively. The dilution by half of NF syrup offered paraben concentrations still protecting against microbiological contamination, taking into account the recommendations by Rowe RC⁶, which indicate nipagin base concentrations between 0.015 and 0.2%, and nipasol base concentrations between 0.01 and 0.02%. This could be the reason for the sustained microbiological stability. On the contrary, the concentration of parabens in the plain syrup diluted by half lost its protection action. At the time of designing the plain syrup concentration, we chose one that contained the minimum level of parabens, in order to reduce the use of these preservatives in the paediatric population; and therefore, when diluting it by half, the preservative concentration was insufficient. Even though it has not become contaminated throughout the period of the study, for daily practice we recommend using the vial within 14 days after its opening, following the guidelines by the Pharmacotechnology Work Team¹.

The atenolol 2 mg/ml suspension was the formulation more sensitive to contamination, because 1% methylcellulose solution was exclusively used, and it contained no preservatives. Even though its expiration period is determined at 28 days, once the vial is opened it should be used within 14 days maximum, as indicated by the Pharmacotechnology Work Group¹.

The 1% methylcellulose solution is prepared with the raw material and with sterile distilled water. After preparation, it has a 14-day expiration period if not sterilized; on the other hand, after sterilization in autoclave, its validity period is increased up to 6 months. We always use sterilized methylcellulose for preparation of liquid formulations.

Oral liquid formulations don't need to be sterile, but it is very necessary to apply all strategies in order to minimize the bacterial burden and meet the Pharmacopoeia rules. One of them is the use of sterile water when required in the formulation. In our Pharmacy Unit, all liquid formulations are prepared with sterile water.

The Good Practice Guidelines for preparation of medications in Hospital Pharmacy Units⁷ recommend using purified water for the final rinse of lab and packaging materials. In our case, we use highly purified water for the final rinse, with a better microbiological quality.

Another aspect to highlight is the fact of using sterilized packaging materials as an additional quality measure for liquid formulations, because it can favour a reduction in the initial bacterial burden of the preparation, which could act as a contamination source. The fact of sterilizing the packaging materials allows to reduce the amount of preservatives to the higher extent possible.

Finally, another source of contamination for the final formulation must be considered: the raw materials or the initial solid formulations containing the active ingredient.

One limitation of the study is that the daily dynamics of opening the multi-dose vials has been reproduced, but the formulation has not been handled by extracting a sample volume, which would be closer to a real situation. On the other hand, some formulations are not for single daily administration, but must be administered several times per day; in these cases, the frequency of opening the vials is higher, and it is unknown if this factor can affect microbiological stability.

Conclusions

Our study has demonstrated that the microbiological stability of oral liquid formulations prepared under controlled conditions and packaged in multi-dose sterile vials will be sustained during the period of physicochemical validity, both when the vial is kept closed and when it is opened every day, regardless of whether the vehicle contains preservatives or not.

Even so, it is always advisable to adjust the volume of the vial to the volume required by a patient during the period until the expiration date, taking into account that

vials should not be kept open for over 14 days, if they contain no preservatives.

Conflict of interests

No conflict of interests.

Bibliography

1. Período de validez y caducidad de formas farmacéuticas no estériles orales líquidas. Farmacotecnia, boletín informativo SEFH BOLETIN_1_2015.pdf. [citado 9 de abril de 2016]. Disponible: http://gruposdetrabajo.sefh.es/farmacotecnia/images/stories/Boletines/BOLETIN_1_2015.pdf
2. 2.6.12. Control microbiológico de productos no estériles: ensayos de recuento microbiano. Real Farmacopea Española en internet 5ª ed. [citado 9 de abril de 2016] Disponible: <https://extranet.boe.es/farmacopea/>
3. 2.6.13. Control microbiológico de productos no estériles: ensayo de microorganismos especificados. Real Farmacopea Española en internet 5ª ed. [citado 9 de abril de 2016]. Disponible: <https://extranet.boe.es/farmacopea/>
4. 5.1.4. Calidad microbiológica de las preparaciones farmacéuticas y de las sustancias para uso farmacéutico no estériles. Real Farmacopea Española en internet 5ª ed [citado 9 de abril de 2016]. Disponible: <https://extranet.boe.es/farmacopea/>
5. Real Decreto 175/2001, de 23 de febrero, por el que se aprueban las normas de correcta elaboración y control de calidad de fórmulas magistrales y preparados oficiales. Boletín Oficial del Estado, nº 65, (16 de marzo de 2001).
6. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME, editors. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6ª ed. London: Pharmaceutical Press; 2009.
7. Guía de Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos en Servicios de Farmacia Hospitalaria – Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad 2014. GuíaBPP3.pdf [citado 9 de abril de 2016]. Disponible: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/farmacia/pdf/GuiaBPP3.pdf>

Aportación a la literatura científica

Este es el primer estudio que aborda de forma exclusiva la estabilidad microbiológica de cinco tipos de fórmulas magistrales orales líquidas pediátricas. Existen publicaciones sobre la estabilidad fisicoquímica de fórmulas líquidas pero la estabilidad microbiológica se contempla de manera secundaria.

Los resultados de este estudio y nuestra experiencia pueden contribuir a que otros Servicios de Farmacia investiguen la calidad microbiológica de las fórmulas que preparan. Creemos que es importante publicar estos trabajos con el fin de dar a conocer unos procedimientos de trabajo extrapolables a las áreas de farmacotecnia con el objetivo de mejorar la calidad microbiológica de las fórmulas magistrales orales líquidas.

Introducción

La población pediátrica necesita modificaciones o adaptaciones de las especialidades farmacéuticas sólidas,

comprimidos o cápsulas, para conseguir una individualización de la dosis y facilitar su administración oral. La elaboración por parte del farmacéutico de fórmulas magistrales líquidas permite la medición exacta de la dosis, frecuentemente modificada por el peso.

Las soluciones y las suspensiones acuosas son más inestables desde el punto de vista fisicoquímico y microbiológico que las formas sólidas y tras su preparación necesitan estudios de estabilidad para determinar el tiempo de validez. Aunque la validez fisicoquímica es un aspecto ampliamente estudiado en formulación magistral no lo es tanto el aspecto microbiológico¹. La contaminación de las fórmulas no estériles puede reducir o inactivar la acción terapéutica del fármaco o incluso dar lugar a productos tóxicos y afectar a la salud del paciente. Por otra parte, la ingestión de microorganismos patógenos podría originar una infección especialmente grave en el neonato y en el paciente inmunodeprimido.

Para la preparación de una fórmula magistral líquida se necesita el principio activo, que proviene de una espe-

cialidad farmacéutica o de materia prima, y excipientes que la dotan de estabilidad físico-química y microbiológica y que ofrecen unas características organolépticas aceptables. Para evitar la proliferación de microorganismos es frecuente la adición de conservantes, especialmente si se trata de preparaciones multidosis.

Es muy importante determinar la validez microbiológica de las fórmulas multidosis que deben abrirse y cerrarse muy frecuentemente durante el periodo de validez físico-química. De ahí el interés por cumplir con las normas de garantía de calidad de la Real Farmacopea Española que marca unos límites. Los criterios de aceptación de la calidad microbiológica de las formas farmacéuticas no estériles orales acuosas son: 10^2 UFC en el recuento de microorganismos aerobios totales (número máximo aceptable 200), 10^1 UFC en el recuento de levaduras y mohos totales (número máximo aceptable 20) y ausencia de *Escherichia coli* en 1g o 1 ml²⁻⁴.

Estudio previo

Para la selección de las fórmulas sometidas a estudio se clasificaron las fórmulas líquidas normalizadas del Área de Farmacotecnia del Servicio de Farmacia del Hospital Vall d'Hebron según el tipo de excipientes. Se se-

leccionaron cinco fórmulas que representan las posibles combinaciones entre ellos. Algunos contienen conservantes (Ora Sweet®, Ora Plus®, jarabe National Formulary (NF) y jarabe simple) y otros no (metilcelulosa 1%).

La composición de las fórmulas representantes de cada grupo de excipientes y sus condiciones de conservación y tiempos de caducidad se recogen en la tabla 1.

Una vez seleccionadas las fórmulas y teniendo en cuenta el periodo de validez de cada una, se diseñó un cronograma de trabajo. Se estableció un análisis microbiológico semanal durante el primer mes de validez. A partir de esta fecha, el análisis pasó a ser quincenal hasta la fecha de caducidad de cada fórmula. Durante todo el periodo de estudio las fórmulas se conservaron en las condiciones recomendadas para el periodo de validez. La tabla 2 recoge el cronograma de trabajo.

El objetivo fue evaluar la estabilidad microbiológica durante el periodo de validez físico-química de cinco fórmulas magistrales líquidas multidosis que representan cinco tipos de vehículos elaboradas en condiciones controladas y envasadas en frascos estériles. Se determinó si existió contaminación microbiológica de la fórmula cuando no se manipuló durante el periodo de validez y cuando el frasco se abrió y cerró diariamente hasta la fecha de

Tabla 1. Composición de la fórmulas magistrales, condiciones de conservación y tiempos de caducidad

Fórmula magistral	Composición	Condiciones de conservación y caducidad	
Atenolol 2 mg/ml suspensión	Por 100 ml:		
	Atenolol comp 50 mg	4 comp	Nevera 28 días
	Glicerina	4 ml	
Metilcelulosa 1%	96 ml		
Cafeína citrato 20 mg/ml solución	Por 100 ml:		Nevera 90 días
	Cafeína citrato	2 g	
	Agua destilada estéril	50 ml	
Espironolactona 5 mg/ml suspensión	Jarabe simple con conservantes (nipagín y nipasol bases)	50 ml	Nevera 56 días
	Por 120 ml:		
	Aldactone comp 25 mg	24 comp	
Propranolol 1 mg/ml suspensión	Ora Plus®	60 ml	Nevera 45 días
	Ora Sweet®	60 ml	
	Por 120 ml:		
	Sumial comp 40 mg	3 comp	
Ursodesoxicólico 20 mg/ml suspensión	Ácido cítrico monohidrato	0,125 mg	Nevera 90 días
	Agua destilada estéril	3 ml	
	Jarabe simple con conservantes (nipagín y nipasol bases)	117 ml	
	Por 100 ml:		
Ursodesoxicólico 20 mg/ml suspensión	Ácido ursodesoxicólico	2 g	Nevera 90 días
	Metilcelulosa 1%	50 ml	
	Jarabe NF (nipagín y nipasol sódicos)	50 ml	

Tabla 2. Cronograma de trabajo

	T = 0d	T = 7d	T = 14d	T = 21d	T = 28d	T = 42d	T = 56d	T = 70d	T = 91d
Atenolol 2 mg/ml susp	x	x	x	x	x				
Cafeína citrato 20 mg/ml sol	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Espironolactona 5 mg/ml susp	x	x	x	x	x	x	x		
Propranolol 1 mg/ml susp	x	x	x	x	x	x			
Ursodesoxicólico 20 mg/ml susp	x	x	x	x	x	x	x	x	x

caducidad, simulando las condiciones de utilización. Se quiso comprobar si el tipo de excipiente contribuye a la contaminación de la fórmula cuando se elabora y envasa en las condiciones anteriormente descritas.

Métodos

Este estudio se realizó en el área maternoinfantil del Servicio de Farmacia y en el laboratorio de Microbiología y Parasitología Clínicas del Hospital Universitario Vall d'Hebron entre Junio y Septiembre del año 2015.

Preparación de las fórmulas

La elaboración de las soluciones y suspensiones se realizó atendiendo a lo establecido en las normas de correcta elaboración de fórmulas magistrales⁵.

De cada fórmula se preparó un lote siguiendo el procedimiento normalizado de trabajo (PNT) correspondiente. Se prepararon 250 ml de suspensión de ácido ursodesoxicólico y de solución de cafeína, 125 ml de suspensión de espironolactona y de atenolol y 120 ml de suspensión de propranolol. La mitad del volumen preparado (muestra) se envasó en un único frasco multidosis de vidrio topacio de 125 ml, con obturador y tapón con indicador de primera apertura. La otra mitad del lote (control), se envasó en viales topacio de 10 ml cada uno, tapados con caucho y chapa y se mantuvieron cerrados hasta el día del análisis. Tanto los frascos como los viales se conservaron en nevera.

Cada día se retiraban de la nevera los frascos muestra, se dejaban templar, las suspensiones se agitaban para homogeneizarlas, y se abrían por un periodo mínimo de 5 minutos y máximo de 30.

El día de análisis se extraía del frasco muestra un volumen aproximado de 10 ml que se envasaba en un vial topacio y se cerraba con tapón de caucho y chapa de aluminio. El vial muestra y uno de los viales control eran los que se analizaban microbiológicamente.

Durante todo el proceso se siguieron las normas de correcta fabricación vigentes en el área de farmacotecnia del servicio de Farmacia. El utillaje utilizado para la preparación de las fórmulas se lava según el PNT, el aclarado final se realiza con agua altamente purificada (desionizada). Todo el material de envasado está esterilizado (frasco, obturador y tapón con indicador de primera apertura y

viales, tapones de caucho y chapas de aluminio) como procedimiento extra para minimizar la carga biológica.

Ensayo microbiológico

Para determinar si las formulaciones cumplían los criterios de aceptación de calidad microbiológica se siguieron los procedimientos indicados por la Real Farmacopea Española de control microbiológico de productos no estériles (ensayos de recuento microbiano y de microorganismos especificados)^{2,3}. Se realizaron los ensayos de fertilidad y de esterilidad (ambos con y sin el producto a estudiar). Cada ensayo fue realizado por duplicado. Los microorganismos investigados fueron bacterias mesófilas y hongos.

Para el ensayo de fertilidad sin producto se utilizaron cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Pseudomonas aeruginosa*. Partiendo de una concentración conocida de $1,5 \times 10^2$ UFC/ml en caldo TSB (Tryptic Soy Broth), se sembraron por vertido en medio PCA (Plate Count Agar) para *S. aureus*. Para sembrar el medio McConKey agar (*E. coli* y *P. aeruginosa*) se utilizó la técnica de extensión en superficie con asas de Digraslky.

El ensayo de esterilidad se llevó a cabo con 1 ml de TSB sembrado en PCA, caldo McConkey y agar Sabouraud.

La comprobación de fertilidad con producto fue realizada partiendo de una dilución 1/10 del jarabe, a la cual se le agrega la cepa ATCC en una dilución de $1,5 \times 10^4$ UFC/ml y se siembra en los medios descritos anteriormente para el ensayo de fertilidad.

Finalmente, la comprobación de esterilidad del producto se realizó preparando una dilución 1/10 en caldo TSB del producto a estudio. Se sembró 1 ml de esta dilución en agar PCA, agar Sabouraud y caldo McConkey.

Para cada ensayo los caldos y placas de McConkey, y las placas de PCA fueron incubados entre 35 y 37°C durante 48 horas; mientras que las placas de agar Sabouraud se incubaron entre 20 y 25°C durante 5 días. Las primeras fueron observadas cada día, mientras que las segundas se examinaban al tercer y quinto día, buscando crecimiento.

Resultados y discusión

Nuestros resultados demuestran que no hubo crecimiento microbiológico en ninguno de los cultivos duran-

te el periodo de estudio. Ninguna de las muestras de las fórmulas extraídas del frasco multidosis ni ninguno de los viales control se contaminaron durante el periodo de validez. Los controles utilizados fueron aptos para valorar la técnica.

El tipo de excipiente no alteró el patrón de contaminación de las fórmulas magistrales orales líquidas elaboradas en condiciones controladas y envasadas en frascos estériles.

La suspensión de espirolactona 5 mg/ml utiliza Ora Sweet[®] y Ora Plus[®] (1:1) en su formulación y contienen parabenos como conservantes. La suspensión de propranolol 1 mg/ml se elabora exclusivamente con jarabe simple con parabenos. En estas dos situaciones, la osmolaridad del vehículo y la presencia de conservantes favorecen la ausencia de contaminación.

La solución oral de citrato de cafeína 20 mg/ml se prepara con jarabe simple con conservantes y agua estéril a partes iguales y la concentración del azúcar y los conservantes se reducen a la mitad en la preparación final. El caso de la suspensión de ácido ursodesoxicólico 20 mg/ml es muy similar al anterior porque la solución de metilcelulosa 1% no contiene ningún conservante.

Los conservantes del jarabe simple utilizados en nuestro estudio son nipagin y nipasol bases a concentración de 0,02% y 0,01% (P/V) respectivamente y del jarabe NF son nipagin y nipasol sódicos a concentración de 0,06% y 0,03% (P/V) (en forma de bases) respectivamente. La dilución a la mitad del jarabe NF ofrece concentraciones de parabenos aún protectoras para la contaminación microbiológica teniendo en cuenta las recomendaciones de Rowe RC⁶, que indican concentraciones de nipagin base entre 0,015-0,2% y de nipasol base de 0,01-0,02%. Ésta podría ser la razón por la cual se mantiene la estabilidad microbiológica. En cambio la concentración de parabenos en el jarabe simple diluido a la mitad, no es una concentración protectora. A la hora de diseñar la fórmula del jarabe simple nos decantamos por una que contuviera el mínimo de parabenos para reducir el aporte de estos conservantes a la población pediátrica y por eso, al diluirlo a la mitad, la concentración de conservantes es insuficiente. Aunque durante todo el periodo de estudio no se ha contaminado, en la práctica diaria recomendamos que el frasco sea consumido en los 14 días posteriores a su apertura siguiendo las pautas del Grupo de Trabajo de Farmacotecnia¹.

La suspensión de atenolol 2 mg/ml es la fórmula más sensible a la contaminación ya que utiliza exclusivamente la solución de metilcelulosa al 1% y no contiene conservantes. Aunque la caducidad está fijada en 28 días, una vez abierto el frasco se debería utilizar en un máximo de 14 días, tal como indica el Grupo de Trabajo de Farmacotecnia¹.

La solución de metilcelulosa al 1% se prepara con la materia prima y con agua destilada estéril. Tras su pre-

paración se le da una caducidad de 14 días si no se esteriliza; en cambio, tras la esterilización en autoclave, su tiempo de validez se incrementa hasta los 6 meses. Para la preparación de las fórmulas líquidas siempre empleamos la metilcelulosa esterilizada.

Las fórmulas orales líquidas no tienen por qué ser estériles pero es muy necesario aplicar todas las estrategias para minimizar la carga bacteriana y cumplir con la Farmacopea. Una de ellas es la utilización de agua estéril cuando es necesaria en la formulación. En nuestro servicio de Farmacia todas las fórmulas líquidas se preparan con agua estéril.

La Guía de buenas prácticas de preparación de medicamentos en servicios de farmacia hospitalaria⁷ recomienda que el agua para el aclarado final del material de laboratorio y de envasado sea agua purificada. En nuestro caso el agua empleada para el aclarado final es agua altamente purificada con mejor calidad microbiológica.

Otro aspecto a destacar es el hecho de utilizar material de envasado esterilizado como medida adicional de calidad de las fórmulas magistrales líquidas porque puede contribuir a reducir la carga bacteriana inicial de la preparación que podría actuar como foco de contaminación. El hecho de esterilizar el material de envasado permite reducir al máximo la cantidad de conservantes.

Finalmente, también considerar otra fuente de contaminación de la fórmula final, la materia prima o las formas sólidas de partida que contienen el principio activo.

Una limitación del estudio es que se ha reproducido la dinámica diaria de apertura de los frascos multidosis pero no se ha manipulado la fórmula extrayendo un volumen de muestra, que se aproximaría más a una situación real. Por otro lado, algunas de las fórmulas no son de administración única diaria sino que se administran varias veces al día; en estos casos la frecuencia de apertura de los frascos es mayor y se desconoce si este factor puede afectar la estabilidad microbiológica.

Conclusiones

En nuestro estudio se demuestra que la estabilidad microbiológica de las fórmulas magistrales orales líquidas elaboradas en condiciones controladas y envasadas en frascos estériles multidosis se mantiene durante el periodo de validez fisicoquímica tanto cuando se mantiene el envase cerrado o cuando se abre cada día, independientemente de si el vehículo lleva o no conservante.

Aún así siempre es recomendable ajustar el volumen del envase al volumen que necesita un paciente durante el periodo de caducidad teniendo en cuenta que los envases no deberían permanecer abiertos más de 14 días si no contienen conservantes.

Conflicto de interés

Sin conflicto de interés

Bibliografía

1. Período de validez y caducidad de formas farmacéuticas no estériles orales líquidas . Farmacotecnia, boletín informativo SEFH BOLETIN_1_2015.pdf. [citado 9 de abril de 2016]. Disponible: http://gruposdetrabajo.sefh.es/farmacotecnia/images/stories/Boletines/BOLETIN_1_2015.pdf
2. 2.6.12. Control microbiológico de productos no estériles: ensayos de recuento microbiano. Real Farmacopea Española en internet 5ª ed. [citado 9 de abril de 2016] Disponible: <https://extranet.boe.es/farmacopea/>
3. 2.6.13. Control microbiológico de productos no estériles: ensayo de microorganismos especificados. Real Farmacopea Española en internet 5ª ed. [citado 9 de abril de 2016]. Disponible: <https://extranet.boe.es/farmacopea/>
4. 5.1.4. Calidad microbiológica de las preparaciones farmacéuticas y de las sustancias para uso farmacéutico no estériles. Real Farmacopea Española en internet 5ª ed [citado 9 de abril de 2016]. Disponible: <https://extranet.boe.es/farmacopea/>
5. Real Decreto 175/2001, de 23 de febrero, por el que se aprueban las normas de correcta elaboración y control de calidad de fórmulas magistrales y preparados oficinales. Boletín Oficial del Estado, nº 65, (16 de marzo de 2001).
6. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME, editors . Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6ª ed. London: Pharmaceutical Press; 2009
7. Guía de Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos en Servicios de Farmacia Hospitalaria – Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad 2014.GuiaBPP3.pdf [citado 9 de abril de 2016]. Disponible: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/farmacia/pdf/GuiaBPP3.pdf>