

## Estabilidad de una mezcla de Tobramicina 0,01 mg/ml y Vancomicina 0,05 mg/ml en BSS-PLUS para irrigación-lavado intraocular

R. ANTÓN TORRES<sup>1</sup>, J. BORRÁS BLASCO<sup>2</sup>, A. ESTEBAN RODRÍGUEZ<sup>3</sup>, A. MONTESINOS ROS<sup>4</sup>, M. MARTÍNEZ RAMÍREZ<sup>5</sup>, A. NAVARRO RUIZ<sup>6</sup>, V. ORTIZ DE URBINA SANDOMINGO<sup>7</sup>, I. JIMÉNEZ PULIDO<sup>8</sup>, C. GARCÍA MOTOS<sup>9</sup>, M. GONZÁLEZ DELGADO<sup>10</sup>

<sup>1</sup>Licenciada en Farmacia, Especialista en Farmacia Hospitalaria. <sup>2</sup>Licenciado en Farmacia, Doctor en Farmacia, Especialista en Farmacia Hospitalaria. <sup>3</sup>Licenciado en Químicas, Doctor en Químicas, Especialista en Análisis Clínicos. <sup>4</sup>Licenciada en Farmacia, Residente I. <sup>5</sup>Licenciado en Farmacia, Residente III. <sup>6</sup>Licenciado en Farmacia, Especialista en Farmacia Hospitalaria. <sup>7</sup>Licenciada en Farmacia, Residente III. <sup>8</sup>Licenciada en Farmacia, Residente II. <sup>9</sup>Licenciada en Farmacia, Especialista en Farmacia Hospitalaria. <sup>10</sup>Licenciada en Farmacia, Especialista en Farmacia Hospitalaria. Servicio de Farmacia. Hospital General Universitario de Elche

### Resumen

**Objetivo:** Conocer la estabilidad de una mezcla de vancomicina 0,05 mg/ml y tobramicina 0,01 mg/ml en BSS-plus, empleada para irrigación y lavado en cirugía de cataratas.

**Material y métodos:** A partir de seis frascos de BSS-plus, aditivados de Vancomicina y Tobramicina a las concentraciones de 0,05 mg/ml y 0,01 mg/ml, preparados de idéntica manera, en cabina de flujo laminar horizontal, se estudia la estabilidad en dos condiciones distintas de conservación, a T<sup>a</sup> ambiente y en nevera (4-8°C), durante 14 días, determinando la concentración de tobramicina por inmunofluorescencia polarizada TDx/FLx y la concentración de vancomicina por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la ausencia de precipitados por observación visual, el pH y la esterilidad por cultivo microbiológico.

**Resultados:** Ausencia de precipitados en ambas soluciones durante los 14 días del estudio. Incremento progresivo del pH desde 7,4 hasta 8,7 en la solución conservada entre 4-8°C, que llega hasta 9,2 en la conservada a T<sup>a</sup> ambiente. Ausencia de crecimiento bacteriano en todas las muestras. La concentración de tobramicina se mantuvo por encima del 90% de la concentración inicial al menos durante 14 días en la solución conservada en refrigeración y 12 días a T<sup>a</sup> ambiente. La concentración de vancomicina se mantuvo por encima del 90% de la concentración inicial durante al menos 14 días en la solución conservada en refrigeración y 8 días a T<sup>a</sup> ambiente.

**Conclusión:** Se establece una estabilidad de al menos 14 días cuando la mezcla binaria antibiótica se conserva en refrigeración (4-8°C) y de 8 días cuando se conserva a T<sup>a</sup> ambiente. Estos resultados permiten al Servicio de Farmacia establecer un protocolo de preparación programado de la mezcla de antibióticos en BSS-plus evitando la necesidad de preparar extemporáneamente la solución previa a cada intervención quirúrgica y minimizar los costes de preparación al garantizar que no se pierde ninguna de las soluciones preparadas.

Recibido: 15-03-2001

Aceptado: 24-10-2001

Correspondencia: Rosa Antón Torres. Farmacéutico Adjunto, Servicio de Farmacia. Hospital General Universitario de Elche. Partida Huertos y Moli- nos s/n. Elche 03202.

**Palabras clave:** BSS-plus. Endoftalmitis. Estabilidad. Vancomicina. Tobramicina.

### Summary

**Objective:** To know the stability of a vancomycin 0.05 mg/mL and tobramycin 0.01 mg/mL mixture in BSS-Plus used with irrigation and washing purposes in cataract surgery.

**Material and methods:** Using six flasks of BSS-plus with added vancomycin and tobramycin at a concentration of 0.05 mg/mL and 0.01 mg/mL, respectively, after identical preparation within a horizontal laminar flow cabin, stability is studied under two different preservation conditions – at room temperature and in a refrigerator (4-8 °C) over 14 days. Tobramycin concentration was determined by TDx/FLx polarised immunofluorescence, vancomycin concentration was established using high resolution liquid chromatography (HPLC), absence of precipitate was acknowledged by visual inspection, and both pH and sterility were analysed by means of biological culture.

**Results:** Absence of precipitate in both solutions over the 14-day study. Progressive increase in pH – from 7.4 to 8.7 for the solution preserved at 4-8 °C, and up to 9.2 in the solution preserved at room temperature. Absence of bacterial growth in all samples. Tobramycin concentration stayed above 90 % of baseline value at least for 14 days in the refrigerated solution, and for 12 days in the solution kept at room temperature. Vancomycin concentration stayed above 90 % of baseline value at least for 14 days in the refrigerated solution, and for 8 days in the solution kept at room temperature.

**Conclusion:** A stability of at least 14 days was established for the dual antibiotic mixture when kept in a refrigerated (4-8 °C) environment, whereas a stability of 8 days was encountered when it was preserved at room temperature. These results allow the Pharmacy Department to establish a protocol for the scheduled preparation of antibiotic mixtures in BSS-Plus, thus avoiding the need for extemporaneous preparation before surgical procedures, and allowing preparation costs to be minimised, as the fact that already prepared solutions are not wasted is thus guaranteed.

**Key words:** BSS-Plus. Endophthalmitis. Stability. Vancomycin. Tobramycin.

## INTRODUCCIÓN

Una de las complicaciones más graves de la cirugía de cataratas es la endoftalmitis, su incidencia es de 0,078-0,533%. En este proceso se hallan involucrados distintos microorganismos: cocos gram+, principalmente los *Staphilococcus aureus* y bacilos gram-, sobre todo *Pseudomonas aeruginosa*. El empleo de antibióticos intravítreos ha disminuido la incidencia de la endoftalmitis infecciosa, pero no ha conseguido evitar que se produzcan, en algunos casos, desenlaces graves con pérdida del globo ocular. Esto se debe a la dificultad de que se alcancen concentraciones terapéuticas de estos antibióticos a nivel del humor acuoso y vítreo. Los antibióticos más utilizados en este tipo de tratamientos son combinaciones de aminoglucósidos (amikacina, gentamicina y tobramicina) y glicopéptidos (vancomicina) (1,2). El BSS-plus es una solución estéril polielectrolítica tamponada, ampliamente utilizada para irrigación-lavado en cirugía oftálmica.

A raíz de un brote de endoftalmitis ocurrido en nuestro hospital, la Comisión de Infecciones y el Servicio de Oftalmología revisaron y actualizaron el protocolo de profilaxis antiinfecciosa en la cirugía del segmento anterior del ojo, estableciendo un conjunto de medidas terapéuticas, tópicas y sistémicas. Estas medidas incluían, entre otras, la utilización durante la cirugía, de una solución para irrigación y lavado de BSS-plus aditivado de vancomicina y tobramicina a unas concentraciones de 0,05 mg/ml y 0,01 mg/ml respectivamente. Se solicitó al Servicio de Farmacia la preparación de la misma en campana de flujo laminar para garantizar la esterilidad.

Se hizo un estudio económico, para conocer el coste de esta solución, siendo aproximadamente de 28.000 ptas. el lote de 5 frascos, que serían los necesarios para cubrir cada jornada de cirugía programada.

Ante la necesidad de conocer la estabilidad de la mezcla se hizo una búsqueda bibliográfica exhaustiva (Medline 1966-2000), no encontrando información al respecto. Se consultó a los laboratorios fabricantes de la solución para irrigación-lavado y de los antibióticos aditivados y tampoco tenían datos al respecto.

Por todo ello nos planteamos la realización de un trabajo experimental con el objetivo de conocer la estabilidad de la mezcla vancomicina 0,05 mg/ml y tobramicina 0,01 mg/ml en BSS-plus, con el fin de poder preparar la solución en el Servicio de Farmacia de forma programada, garantizando su estabilidad el mayor tiempo posible, evitando de este modo pérdidas económicas importantes por desecho de soluciones no utilizadas.

## MATERIAL Y MÉTODO

Las muestras experimentales utilizadas para la elaboración de la mezcla vancomicina 0,05 mg/ml y tobramicina 0,01 mg/ml en BSS-plus se prepararon utilizando las siguientes especialidades farmacéuticas: BSS-plus® fras-

co 480 ml y vial 20 ml (Lab. Alcon Cusí S.A.), Diatracin® vial 500 mg (Lab.Dista S.L.) y Tobradistin® jeringa 100 mg (Lab. Dista S.L.).

## Método de elaboración

En campana de flujo laminar, se prepararon seis frascos de BSS-plus de 500 ml, mediante la adición de la solución contenida en el vial de 20 ml al frasco de 480 ml. La mezcla polielectrolítica se aditivó con las soluciones de vancomicina y tobramicina a las concentraciones de 0,05mg/ml y 0,01mg/ml, respectivamente, según el siguiente protocolo:

1. *Preparación de vancomicina 0,05mg/ml*: reconstituir 1 vial de Diatracin® (vancomicina) de 500 mg con 10 ml de agua p.i. estéril, disolver y añadir 0,5 ml (25mg) de la solución a cada frasco de BSS-plus de 500 ml, filtrando a través de un filtro de 0,22 µm.

2. *Preparación de tobramicina 0,01mg/ml*: diluir al décimo 1 jeringa de tobramicina de 100mg (2ml) con 8ml de agua p.i. estéril, obteniéndose una mezcla de 10 mg/ml. Añadir, 0,5 ml (5mg) a cada frasco de BSS-plus filtrando a través de un filtro de 0,22 µm.

De este modo cada frasco de BSS-plus tendrá finalmente una concentración de 0,05mg/ml de vancomicina y 0,01mg/ml de tobramicina.

## Condiciones de estudio

De los seis frascos preparados de idéntica manera y concentración, tres se almacenaron a T<sup>a</sup> ambiente y tres en condiciones de refrigeración (4-8°C).

Para cada una de las condiciones de almacenamiento se estudiaron la ausencia de partículas, pH, esterilidad y estabilidad durante 14 días. Para ello se tomaron de cada frasco cuatro muestras a los días: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14.

## Ausencia de partículas

La ausencia de partículas se comprobó diariamente (14 días) de forma visual, así como la presencia de algún tipo de precipitado en las soluciones preparadas y conservadas a distinta T<sup>a</sup>.

## Control de pH

El pH de las muestras se determinó por triplicado para cada una de las muestras, con el propósito de conocer su evolución a lo largo del tiempo. Las medidas se realizaron utilizando un phmetro Crison® microph 2002 (Crisson Instruments S.A. Barcelona).

## Control de estabilidad

El período de estabilidad de una forma farmacéutica se considera el tiempo durante el cual la concentración remanente del principio activo supera o iguala el 90% de la concentración inicial. La USP considera que el margen de variación permitido para una solución oftálmica se ha de situar entre el 90-115% de la concentración inicial (3).

Para conocer la estabilidad de la tobramicina se determinó su concentración en cada una de las muestras por triplicado mediante ensayo de inmunofluorescencia polarizada TDx/FLx de Abbott Diagnostic Division (4), con un límite de sensibilidad de 0,18 mcg/ml y un coeficiente de variación inferior al 10% en el ámbito de concentraciones comprendido entre 0,18 y 8 mcg/ml. Debido a que las concentraciones de tobramicina tienen un rango superior al de la técnica, se realiza en cada medida una dilución al 50% de forma que el contenido final se encuentra dentro del rango de detección del aparato.

Para conocer la estabilidad de la vancomicina se determinó por duplicado su concentración en cada una de las muestras, mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) ya que se trata de un método fiable y con el que se evita el posible fenómeno de reactividad cruzada que puede afectar su determinación mediante inmunofluorescencia polarizada TDx/FLx (5-7). El sistema de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) consistió en una bomba doble de distribución de los disolventes modelo 125, un espectrofotómetro ultravioleta modelo 166 y un inyector tipo Reodyne con un "loop" de muestra de 20 µl, de Beckman (San Ramon, CA, USA). Se utilizó una columna Kromasil 100, C18, de 25 x 4,6 cm, de 5 µm de tamaño de partícula, provista de una precolumna C18 de idénticas características de Teknokroma (Barcelona). El cloruro de vancomicina utilizado como estándar fue el de más alta pureza de Sigma. Como estándar interno se utilizó la β-hidroxiethylteofilina (BHET, Sigma, St. Louis, MO, USA). La integración y el cálculo de las curvas de calibración se llevó a cabo mediante ordenador por el "System Gold" de Beckman. La calibración se llevó a cabo por duplicado con estándares acuosos de cloruro de vancomicina, a dos niveles de 25,0 y 50,0 µg/ml. En ningún caso el coeficiente de correlación de la curva de calibración fue inferior a 0,99998. La respuesta del detector se mantuvo lineal entre 20 y 50 µg/ml de vancomicina. El tiempo de retención de los picos fue de 3,36 min para la BHET, y de 4,60 min para la vancomicina.

## Control microbiológico

Con la finalidad de comprobar la esterilidad de la mezcla se realizó el control microbiológico de las soluciones periódicamente (días 0, 5, 10 y 14), para ello en la campana de flujo laminar, se recogieron una muestra de cada solución madre, en un tubo estéril para cultivo

y se envió a Microbiología para su estudio. Para el cultivo bacteriano las muestras se sembraron en caldo tioglicolato y 100 λ en placa de agar sangre para recuento cuantitativo. Se incubaron en estufa a 37 °C durante 7 días. Las muestras para el cultivo de hongos se sembraron en placas de agar Saboureaux-cloranfenicol y se incubaron a T<sup>a</sup> ambiente y en estufa a 37 °C durante 30 días.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El control visual realizado diariamente no detectó la presencia de ningún tipo de precipitado en las soluciones preparadas en las distintas formas de almacenamiento (T<sup>a</sup> ambiente y nevera) durante los 14 días de estudio.

En la tabla I, se muestran los resultados obtenidos del valor de pH de BSS-plus con la mezcla de 0,05mg/ml de vancomicina y 0,01mg/ml de tobramicina a T<sup>a</sup> ambiente y en nevera. Como puede observarse el valor inicial de pH es de aproximadamente 7,5, el cual sufre un incremento progresivo a lo largo del tiempo hasta un valor de 9,2 en el día 14 en la mezcla conservada a T<sup>a</sup> ambiente. Mientras que la solución conservada en nevera también sufre un incremento progresivo del pH hasta alcanzar un valor de 8,7 el día 14. Parece que la conservación de la mezcla refrigerada produce una menor variación en los valores de pH que el obtenido a T<sup>a</sup> ambiente. Aunque ambos valores de pH se encuentran dentro de los límites fisiológicos para

**Tabla I.** Valores medios (±SD) de pH de BSS-plus con la mezcla de 0,05mg/ml de vancomicina y 0,01mg/ml de tobramicina a T<sup>a</sup> ambiente y en nevera

Tiempo (días)	pH Temperatura ambiente	pH Refrigeración
0	7,57 (0,03)	7,57 (0,01)
1	7,70 (0,03)	7,85 (0,01)
2	8,22 (0,03)	7,65 (0,02)
3	8,56 (0,01)	8,04 (0,02)
4	8,65 (0,01)	8,31 (0,01)
5	8,73 (0,01)	8,45 (0,01)
6	8,72 (0,01)	8,56 (0,01)
7	8,96 (0,01)	8,68 (0,01)
8	8,98 (0,01)	8,65 (0,01)
9	9,14 (0,01)	8,71 (0,01)
10	9,16 (0,01)	8,73 (0,02)
11	9,17 (0,01)	8,72 (0,01)
12	9,17 (0,01)	8,72 (0,01)
13	9,18 (0,01)	8,74 (0,01)
14	9,18 (0,01)	8,74 (0,01)

el ojo (7,4-9,5) considerados como no irritantes para soluciones isotónicas de tampón fosfato para administración oftálmica (8).

Pese a que las condiciones de trabajo fueron asépticas, para comprobar la esterilidad de la mezcla binaria se realizaron cultivos microbiológicos seriados durante los 14 días del estudio para las dos condiciones de almacenamiento. No apreciándose en ninguno de ellos crecimiento bacteriano ni fúngico.

Los valores de concentración de cada uno de los antibióticos estudiados se determinaron individualmente, considerándose en ambos casos que los resultados obtenidos a tiempo cero (día de elaboración de la solución de BSS-plus adicionada de los dos antibióticos) equivalen al 100% de la concentración para los dos antibióticos estudiados. En la figura 1 se presenta la curva de degradación porcentual de los valores medios de tobramicina 0,01mg/ml en BSS-plus en las dos condiciones de almacenamiento. Como puede observarse el mantenimiento de la solución refrigerada permite que la estabilidad de ésta sea la adecuada durante al menos 14 días (pérdida de concentración inferior al 10% de la inicial). En el caso de conservación a T<sup>a</sup> ambiente la estabilidad se mantiene hasta el día 13, a partir del cual la concentración se sitúa en valores inferiores al 90% de la inicial.

En la figura 2 se presenta la curva de degradación por-

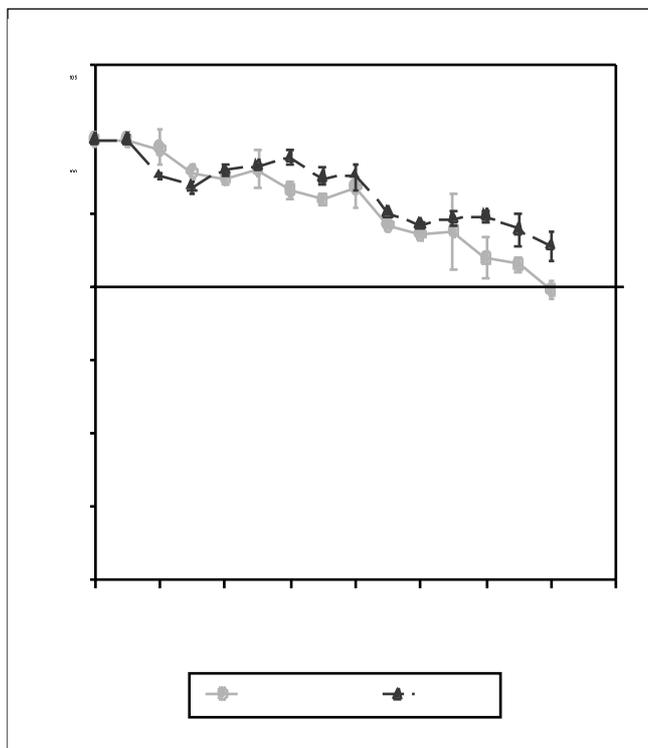


Fig. 1.- Evolución porcentual de concentraciones de tobramicina en las diferentes condiciones de conservación.

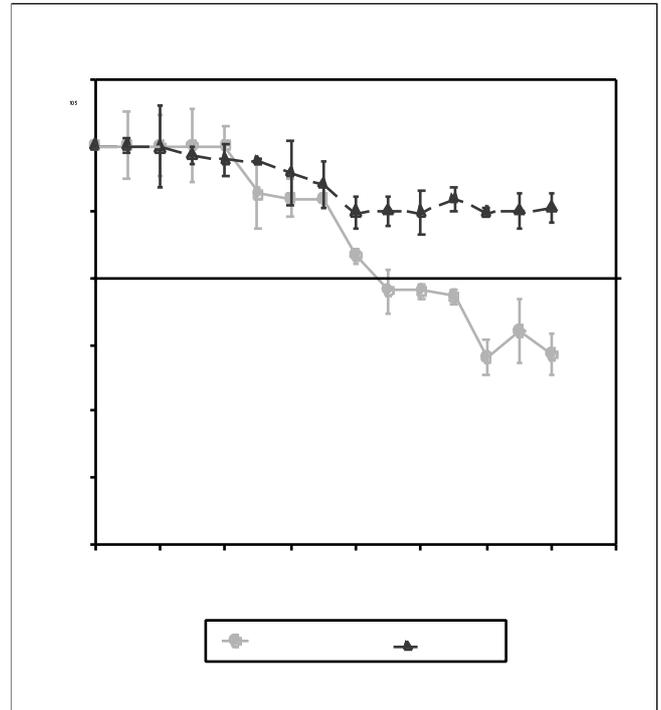


Fig. 2.- Evolución porcentual de concentraciones de vancomicina en las diferentes condiciones de conservación.

centual de la vancomicina 0,05mg/ml en BSS-plus en las dos condiciones de almacenamiento. Como puede observarse, el mantenimiento de la solución en condiciones de refrigeración permite que la estabilidad de ésta sea la adecuada durante al menos 14 días (pérdida de concentración inferior al 10% de la inicial). En el caso de conservación a T<sup>a</sup> ambiente la estabilidad se mantiene hasta el día 8, a partir de la cual se obtienen concentraciones inferiores al 90% de la inicial.

A la vista de estos resultados parece claro que el almacenamiento de la solución de BSS-plus con 0,05mg/ml de vancomicina y 0,01mg/ml de tobramicina es más estable cuando ésta se conserva entre 4-8°C, siendo mucho más rápida la degradación cuando se conserva a temperatura ambiente. Como puede observarse a partir de los resultados obtenidos, la vancomicina es el antibiótico que va a determinar el período de estabilidad de la mezcla.

Como conclusión de este trabajo se establece una estabilidad de al menos 14 días cuando la mezcla binaria antibiótica se conserva en refrigeración (4-8°C) y de 8 días cuando se conserva a T<sup>a</sup> ambiente. Estos resultados permiten al Servicio de Farmacia establecer un protocolo de preparación programado de la mezcla de antibióticos en BSS-plus evitando la necesidad de preparar extemporáneamente la solución previa a cada intervención quirúrgica y minimizar los costes de preparación al garantizar que no se pierde ninguna de las soluciones preparadas.

**Bibliografía**

1. Neumann AC, Dzelzkalns JJ, Bessinger DJ. Endophthalmitis investigative protocol: a plan for source identification and patient protection. *J Cataract Refract Surg.* 1991; 17: 353-8.
2. Masket S. Preventing, diagnosing, and treating endophthalmitis. *J Cataract Refract Surg.* 1998; 24: 725-6.
3. U.S.P. XXI edition: 829.
4. Romá E, Monte E, Escrivá J, Planells C, Gallego C. Influencia de la concentración, temperatura y vehículo sobre la estabilidad del colirio de tobramicina. XXXVI Congreso de la S.E.F.H. 314-45.
5. Morse GD, Nairn DK, Bertino JS, Walshe JJ. Overestimation of vancomycin concentrations utilizing fluorescence polarization immunoassay in patients on peritoneal dialysis. *Ther Drug Monit.* 1987; 9: 212-5.
6. White LO, Edwards R, Holt HA, Lovering AM, Finch RG, Reeves DS. The in-vitro degradation at 37 degrees C of vancomycin in serum, CAPD fluid and phosphate-buffered saline. *J Antimicrob Chemother.* 1988; 22: 739-45.
7. Moreno S, Roca M, del Pozo A. Estabilidad de colirios de vancomicina mediante cromatografía líquida de alta resolución. *Cienc Pharm* 1996; 6: 77-81
8. Vila Jato JL. Formas oftálmicas, óticas y nasales en Monografías Galénicas Glaxo Welcome 1993.

**FE DE ERRATAS**

En el artículo de la sección de Seguridad de Medicamentos publicado en la Revista de Farmacia Hospitalaria, 2001; 25: 245-247.

<i>Página 247</i>	<i>donde dice:</i>	<i>debe decir:</i>
Línea 13	10-15mg/kg/día	10-15µg/kg/día
Línea 18	50, 100, y 500 mg	50,100 y 500 µg
Línea 19	10 mg/kg/día	10µg/kg/día

En el volumen 25, suplemento octubre 2001, en la pág. 67 donde aparece el póster "Avances en el tratamiento de la hepatitis C crónica: ribavirina e interferón alfa 2-b", debería aparecer el póster: "Estudio descriptivo del uso de taxanos" J.M. Fernández Martín, M. Camean Fernández, C. Martínez Díaz, J.M. Borrero Rubio, F.J. Serrano Ruiz, F.C. Moreno Sánchez.