

Eficacia antimicrobiana: Fiscalización de soluciones oftálmicas multidosis con conservantes en la formulación para el tratamiento de glaucoma, comercializadas en Argentina según listado de Vademécum Nacional de Medicamentos (2020-2022)

Challenge Test: Inspection of multidose ophthalmic solutions with preservatives in the formulation for the treatment of glaucoma, marketed in Argentina according to the list of the National Vademecum of Medicines (2020-2022)

Karla A. Freire^{1*} , Lucía Bitonte^{1*} , Ana L. Canil¹ , Verónica Llauro¹ , Yanina I. Rodríguez¹ .

¹Instituto Nacional de Medicamentos; Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Buenos Aires, Argentina.

*Estos autores contribuyeron equitativamente al desarrollo del trabajo.

✉ Lucía Bitonte: lucia.bitonte@anmat.gob.ar

Recibido: 26 de julio de 2023. Aprobado: 13 de noviembre de 2023

RESUMEN

Las soluciones oftálmicas multidosis son productos estériles destinados a su instilación en el ojo con fines terapéuticos. Las formulaciones deben ser capaces de mantener una calidad microbiológica adecuada durante todo el periodo de vida útil, ya que una contaminación microbiana puede alterar el producto y causar graves infecciones oculares. En el presente trabajo, se realizó una evaluación de soluciones oftálmicas con conservantes en la formulación para el tratamiento de glaucoma, comercializadas en Argentina, según datos recolectados del Vademécum Nacional de Medicamentos durante el período 2020-2022. Mediante inspecciones de fiscalización de producto, se realizó un muestreo horizontal. Se fiscalizaron 17 establecimientos titulares, en los cuales se realizó el muestreo de 49 especialidades medicinales. Las muestras solicitadas fueron analizadas a través del ensayo de eficacia antimicrobiana, según lineamientos establecidos en el capítulo <80> del primer suplemento de la Farmacopea Argentina, 7ª edición. Los resultados obtenidos mostraron que el 94 % de los ensayos cumplieron con las especificaciones farmacopeicas. Respecto de los ensayos no satisfactorios, se observó que no se alcanzaron los criterios de aceptación farmacopeicos para el microorganismo *Pseudomonas aeruginosa*.

Palabras clave: colirios; control de calidad; conservadores farmacéuticos.

ABSTRACT

Multidose ophthalmic solutions are sterile products intended for instillation in the eye for therapeutic purposes. The formulations must maintain consistent microbiological quality throughout their shelf life, as microbial contamination can lead to alterations in the product and cause serious eye infections. The study evaluated ophthalmic solutions with preservatives in the formulation for the treatment of glaucoma, marketed in Argentina based on data collected from the National Vademecum of Medicines during the period 2020-2022. A horizontal sampling was carried out through product control. A total of 17 establishments were inspected, in which 49 medicinal products were examined. The samples requested were analyzed through the challenge test, according to the guidelines established in Chapter <80> of the first supplement of the Argentine Pharmacopoeia, 7th edition, at the facilities of the Microbiological Laboratory Service of the National Institute of Medicines. The results showed that 94 % of the trials complied with the pharmacopoeial specifications. Regarding the unsatisfactory ones, it was observed that the pharmacopoeial acceptance criteria for the microorganism *Pseudomonas aeruginosa* were not met.

Keywords: eye drops; quality control; pharmaceutical preservatives.

INTRODUCCIÓN

El glaucoma es una de las principales causas de ceguera irreversible a nivel mundial^[1]. Está comprendida por un grupo de neuropatías ópticas progresivas, caracterizadas por el ahuecamiento del disco óptico, la degeneración apoptótica de las células ganglionares de la retina y la pérdida de visión correspondiente^[2]. Esta enfermedad se caracteriza por ser un proceso patológico multifactorial. Si bien la base biológica aún no se comprende en su totalidad y los factores que contribuyen a su progresión no se han caracterizado por completo, el principal factor de riesgo modificable es la hipertensión ocular^[3]. Como primera línea de tratamiento para pacientes con glaucoma se emplean especialidades medicinales tópicas, principalmente soluciones oftálmicas, cuyos principios activos poseen mecanismos de acción que provocan la reducción de la presión ocular y deben ser empleados durante períodos prolongados (uso crónico)^[4].

De acuerdo a la definición que se encuentra en la Farmacopea Argentina: "Las soluciones oftálmicas son soluciones estériles, esencialmente libres de partículas extrañas, apropiadamente preparadas y envasadas para la instilación en el ojo"^[5]. Estos productos deben ser estables química, física y biológicamente, además de no ser tóxicos e irritantes para la córnea. La condición de esterilidad se logra mediante una manufactura adecuada, bajo los lineamientos de las Buenas Prácticas de Fabricación en base a la normativa vigente, según Disposición ANMAT N° 4159/2023. En los productos farmacéuticos multidosis, el agregado de conservantes permite asegurar la calidad microbiológica adecuada, disminuyendo las probabilidades de contaminación luego de su apertura y su posterior dispensación. La concentración utilizada de los conservantes debe ser mínima, tal que se obtenga el efecto antimicrobiano buscado y no presente efectos tóxicos en el paciente. Es posible que el(los) ingrediente(s) farmacéutico(s) o los excipientes posean alguna actividad antimicrobiana intrínseca que se sumará o mejorará la eficacia antimicrobiana del producto farmacéutico formulado y ayudará a minimizar la cantidad de conservante que debe agregarse. Además, los atributos fisicoquímicos del producto, tales como extremos de pH u osmolaridad, pueden tener propiedades antimicrobianas^[6]. En este sentido, el sistema conservador de los productos farmacéuticos está constituido por el conservante utilizado, la formulación y el envase contenedor^[7]. Asimismo, es importante destacar que un conservante no debe ser empleado para prevenir contaminaciones debidas a malas prácticas de elaboración; con lo cual es primordial el seguimiento de las Buenas Prácticas de Elaboración como aseguramiento de calidad de producto farmacéutico^[8].

Como todo producto farmacéutico, las soluciones oftálmicas poseen un período de vida útil mientras el envase se mantiene cerrado y es establecido a través del análisis de la calidad fisicoquímica y microbiológica a distintos tiempos en un estudio de estabilidad. La condición de ser producto multidosis

con agregado de conservantes conduce a que deba declararse un período de vida útil desde la apertura del envase, el cual es sustancialmente determinado por el ensayo de eficacia antimicrobiana. Por lo tanto, este periodo no debe exceder las cuatro semanas sin estar debidamente justificado^[9]. Es crítico que la calidad microbiológica sea mantenida durante todo su período de uso; una eventual contaminación bacteriana puede llevar a la degradación del producto o provocar infecciones oculares^[10].

El ensayo de eficacia antimicrobiana, también conocido como ensayo de desafío al conservante o *Challenge test* (por su denominación en inglés), está diseñado para proporcionar una metodología que evalúa la actividad antimicrobiana de un producto farmacéutico^[9]. Se trata de una prueba compendiada que se realiza durante el desarrollo de la formulación y los ensayos de estabilidad de un medicamento con base acuosa, destinado a ser un producto multidosis^[6]. En este ensayo, un producto es expuesto a microorganismos compendiados para determinar si se encuentra adecuadamente conservado. Por otro lado, es recomendable incluir aislamientos microbianos del entorno de fabricación y almacenamiento. Los microorganismos se inoculan en el producto y se extraen alícuotas a intervalos apropiados para controlar el comportamiento de esta contaminación a lo largo de 28 días. El resultado del ensayo en cuanto a su cumplimiento está basado en criterios farmacopeicos^[11].

Los lineamientos generales del ensayo de eficacia antimicrobiana y criterios de aceptación correspondientes se describen en farmacopeas internacionalmente reconocidas (**Tabla 1**). Estos capítulos están esencialmente armonizados con relación a la ejecución de la prueba; sin embargo, hay diferencias menores con respecto a la selección de microorganismos de desafío, intervalos de prueba y criterios de aceptación.

TABLA 1: CAPÍTULOS DE FARMACOPEAS INTERNACIONALMENTE RECONOCIDAS EN LOS CUALES SE DESCRIBE EL ENSAYO DE EFICACIA ANTIMICROBIANA.

Farmacopeas	Capítulos
Primer suplemento de Farmacopea Argentina (FA), 7ª edición.	<80> "Conservantes" ^[8]
Farmacopea de Estados Unidos (USP, por sus siglas en inglés)	<51> "Prueba de Eficacia antimicrobiana" ^[12]
Farmacopea Europea (EP, por sus siglas en inglés)	5.1.3 "Eficacia de la conservación antimicrobiana" ^[13]
Farmacopea Británica (BP, por sus siglas en inglés)	Appendix XVI C. "Eficacia de la conservación antimicrobiana" ^[14]
Farmacopea Japonesa (JP, por sus siglas en inglés)	<G4-3-170> Preservatives-Effectiveness Tests ^[15]

Tomando como referencia lo establecido en Farmacopea Argentina y a los fines del ensayo, las preparaciones farmacéuticas se clasifican en cuatro categorías y los criterios de aceptación se establecen en función de dicha categorización (Tablas 2 y 3).

TABLA 2: CATEGORIZACIÓN DE PREPARACIONES FARMACÉUTICAS.

Categoría	Descripción del producto
1	Inyectables, otras preparaciones estériles con bases o vehículos acuosos y productos óticos
2	Todas las preparaciones no estériles con bases o vehículos acuosos, a excepción de las preparaciones de administración oral
3	Preparaciones orales con bases o vehículos acuosos, a excepción de antiácidos
4	Antiácidos preparados con base acuosa

Fuente: Capítulo <80>, Conservantes. Primer suplemento, 7ª edición, Farmacopea Argentina.

TABLA 3: CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA MICROORGANISMOS EVALUADOS.

Productos de Categoría 1	
Bacterias	A los 7 días, una reducción logarítmica de no menos de 1,0 desde el recuento calculado en el inicio; a los 14 días, una reducción logarítmica de no menos de 3,0 del recuento inicial; y a los 28 días ningún incremento del recuento de los 14 días.
Levaduras y Hongos filamentosos	Ningún incremento a los 7, 14 y 28 días respecto del recuento inicial.
Productos de Categoría 2	
Bacterias	A los 14 días, una reducción logarítmica de no menos de 2,0 desde el recuento inicial; y a los 28 días ningún incremento del recuento de los 14 días.
Levaduras y Hongos filamentosos	Ningún incremento a los 14 y 28 días respecto del recuento inicial.
Productos de Categoría 3	
Bacterias	A los 14 días, una reducción logarítmica de no menos de 1,0 del recuento inicial; y a los 28 días ningún incremento del recuento de los 14 días.
Levaduras y Hongos filamentosos	Ningún incremento a los 14 y 28 días respecto del recuento inicial.
Productos de Categoría 4	
Bacterias, Levaduras y Hongos filamentosos	Ningún incremento a los 14 y 28 días respecto del recuento inicial.

Fuente: Capítulo <80>, Conservantes. Primer suplemento, 7ª edición, Farmacopea Argentina.

TABLA 4: MICROORGANISMOS EMPLEADOS Y CONDICIONES DE INCUBACIÓN.

Microorganismo	Preparación de cepas de prueba
<i>Staphylococcus aureus</i> Ejemplo, ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83 o NBRC 13276	Agar Digerido de Caseína-Soja o Caldo Digerido de Caseína-Soja 30-35 °C 18-24 horas
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Ejemplo, ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 o NBRC 13275	Agar Digerido de Caseína-Soja o Caldo Digerido de Caseína-Soja 30-35 °C 18-24 horas
<i>Escherichia coli</i> Ejemplo, ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126 o NBRC 3972	Agar Digerido de Caseína-Soja o Caldo Digerido de Caseína-Soja 30-35 °C 18-24 horas.
<i>Candida albicans</i> Por ejemplo, ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72 o NBRC 1594	Agar Sabouraud Dextrosa, Caldo Sabouraud Dextrosa 20-25 °C 48 horas. Agar Digerido de Caseína-Soja o Caldo Digerido de Caseína-Soja 30-35 °C 24-48 horas.
<i>Aspergillus brasiliensis</i> Ejemplo, ATCC 16404, IMI 149007, IP 1431.83 o NBRC 9455	Agar Sabouraud Dextrosa 20-25 °C 5-7 días o hasta alcanzar una buena esporulación.

Fuente: Capítulo <80>, Conservantes. Primer suplemento, 7ª edición, Farmacopea Argentina.

Los microorganismos de ensayo, según lineamientos farmacopeicos, deben provenir de cultivos de no más de cinco pasajes desde su extracción del cultivo original y se ensayan al menos los siguientes microorganismos: *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, en la **Tabla 4** se detallan las condiciones de incubación^[8].

El procedimiento del ensayo consiste en inocular los envases originales con una carga microbiana establecida. Si el envase del producto no permite la inoculación aséptica, se debe transferir muestras de 20 g o ml del producto a cada uno de cinco tubos de ensayo u otro recipiente apropiado estéril y cerrado. Asimismo, se debe considerar que el volumen de inóculo no debe ser mayor al 1 % del volumen total del producto. Inmediatamente después de la inoculación, cada envase o recipiente debe contener entre 10⁵ y 10⁶ UFC/g o ml de producto para las categorías 1, 2 y 3 y entre 10⁴ y 10⁵ UFC/g o ml para la categoría 4. Los envases o recipientes inoculados se incuban a una temperatura entre 20 y 25 °C y se deben tomar muestras en, al menos, los intervalos 7 días, 14 días y 28 días (según la categoría del producto).

En cada intervalo de tiempo registrar cualquier cambio de aspecto y determinar el número de microorganismos viables presentes, utilizando un método de recuento cuya aptitud haya sido demostrada. En este punto es importante resaltar que la metodología analítica debe asegurar una recuperación de los microorganismos en forma eficiente, a fin de poner de manifiesto la presencia o no de una actividad antimicrobiana adecuada.

Luego, se calcula la concentración de cada microorganismo en cada etapa del ensayo y finalmente las reducciones logarítmicas. Estos resultados luego se comparan con los criterios de aceptación descritos en la **Tabla 3** para cada categoría^[8].

El presente trabajo tuvo por objetivo analizar soluciones oftálmicas con conservantes en la formulación para el tratamiento de glaucoma, comercializadas en Argentina según datos recolectados del Vademécum Nacional de Medicamentos durante el período 2020-2022, para verificar el cumplimiento de las especificaciones farmacopeicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

En función del listado de productos en comercialización en Vademecum Nacional de Medicamentos, se analizaron 49 muestras obtenidas mediante inspecciones de fiscalización de producto a los laboratorios titulares entre 2020 y 2022. Los productos analizados contenían los siguientes conservantes: cloruro de benzalconio 0,5 mg/100 ml a 20 mg/100 ml (88 %); complejo estabilizado de oxiclono (SOC) 5 mg/100 ml y 10 mg/100 ml (4 %); polyquaternium-1 1 mg/100 ml (4 %); bromuro de benzododecina 12 mg/100 ml (2 %); polihexanida 0,1 mg/100 ml (2 %); contenidos en envases de 2,5 ml a 15 ml.

Equipamiento

Se utilizaron incubadoras refrigeradas MEMMERT ICP 600, configuradas a temperaturas 20-25 °C, en las cuales se incubaron las muestras analizadas y las placas de recuento de hongos filamentosos y levaduras, y estufas MEMMERT BE 500 configuradas a 30-35 °C, donde se incubaron las placas de recuento de bacterias. Para la preparación y acondicionamiento de materiales estériles utilizados en los ensayos se empleó un autoclave HOGNER 552 E/SP VAP 501 y estufa de calor seco NUMAK LDZH-150kBs.

Todos los ensayos se realizaron bajo cabina de bioseguridad STERILGARD THE BAKER COMPANY, SG400-INT.

Medios de cultivos y soluciones de lavado*

Agar digerido de caseína soja (TSA).
Agar Sabouraud-Dextrosa 4 % (SDA).
Agar Papa Dextrosa (APG).
Solución de lavado A.
Solución de lavado D.
Solución Fisiológica.

*Fórmulas según Farmacopea Argentina^[16].

Microorganismos

Staphylococcus aureus ATCC 6538
Escherichia coli ATCC 8739
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027
Candida albicans ATCC 10231
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404

Las suspensiones microbianas fueron estandarizadas a una carga microbiológica aproximada de 10^8 UFC/ml. Luego se realizaron diluciones seriadas de las suspensiones, empleando como diluyente solución fisiológica estéril para bacterias y levaduras y solución D para *A. brasiliensis*. A continuación, se realizó el control de inóculo mediante el método de recuento en placa, sembrando por duplicado y en profundidad 1 ml de la dilución del inóculo que contenga entre 10-100 UFC, utilizando TSA para las bacterias y SDA para hongos y levaduras. Las placas de TSA se incubaron no más de 3 días a 30-35 °C y SDA no más de 5 días a 20-25 °C. El valor obtenido del recuento en placa se utilizó para calcular el volumen de inóculo a ser empleado en las muestras, de manera que la concentración de microorganismos teórica inicial en las muestras se encontrara entre 10^5 - 10^6 UFC/ml de producto (en función de la categoría del producto en cuestión). Se tuvo en cuenta el volumen del medicamento en cada envase primario de manera de calcular la cantidad de envases necesarios para hacer el ensayo de manera completa, inoculando cada uno en el envase original si el producto permitía una manipulación aséptica.

Metodología

Ensayo de aptitud de la metodología de recuento: se utilizó el método de filtración por membrana, utilizando membranas de nitrocelulosa de 0,45 μ m. Se filtró 1 ml de los productos sin diluir y 1 ml de las diluciones de 1/10, utilizando como diluyente solución D. Luego se realizó 1 lavado con 100 ml de solución A conteniendo una carga menor a 100 UFC del microorganismo a ensayar y se filtró nuevamente. Las membranas se colocaron en placas de Petri con medio de cultivo TSA o SDA y se incubaron en las condiciones indicadas en Farmacopea Argentina^[17]. En paralelo se realizó el control positivo, en el cual se emplearon las mismas condiciones de ensayo, pero utilizando solución fisiológica estéril en lugar de producto. Se calculó el porcentaje de no toxicidad (comparando el control de inóculo frente al control positivo) y el porcentaje de recuperación (comparando el ensayo en presencia del producto frente al control positivo). La técnica se consideró válida si ambos porcentajes arrojaban valores mayores al 50 %. En los productos que no se lograron porcentajes adecuados, se repitió el ensayo empleando 3 lavados de 100 ml con solución D inoculando el microorganismo en el último lavado según lineamientos de Farmacopea Argentina^[17].

Ensayo de eficacia antimicrobiana: como primera instancia se categorizaron los productos a analizar, correspondiendo la totalidad a la categoría 1 por ser productos estériles. Teniendo en cuenta la categorización, se procedió a adicionar un volumen de la suspensión microbiana de modo tal que, luego de la inoculación, la carga microbiana en el producto fue 10^5 - 10^6 UFC/ml. Los envases se incubaron a 20-25 °C durante 28 días y se controló la carga microbiana a tiempo 0 (luego de 15 minutos de contacto), y a tiempo 7, 14, 28 días. La concentración de microorganismos a los distintos tiempos de control se estimó mediante el método de recuento por filtración en membrana, controlando 1 ml del producto sin diluir y 1 ml de diluciones decimales seriadas (realizadas en solución D), por duplicado. Las membranas se colocaron en TSA y SDA (o APG) según el microorganismo y se incubaron a 30-35 °C durante 3 días y 20-25 °C durante 5 días, respectivamente.

A continuación, se calculó en cada tiempo la reducción logarítmica según lo establecido en los criterios de aceptación para la categoría 1 de productos, según el siguiente cálculo:

$$\text{Reducción logarítmica} = \log(\text{UFC } t_1) - \log(\text{UFC } t_2)$$

siendo t_1 y t_2 los intervalos de tiempo de ensayo en comparación.

En la **Figura 1** se describen los pasos a realizar para la ejecución del ensayo.

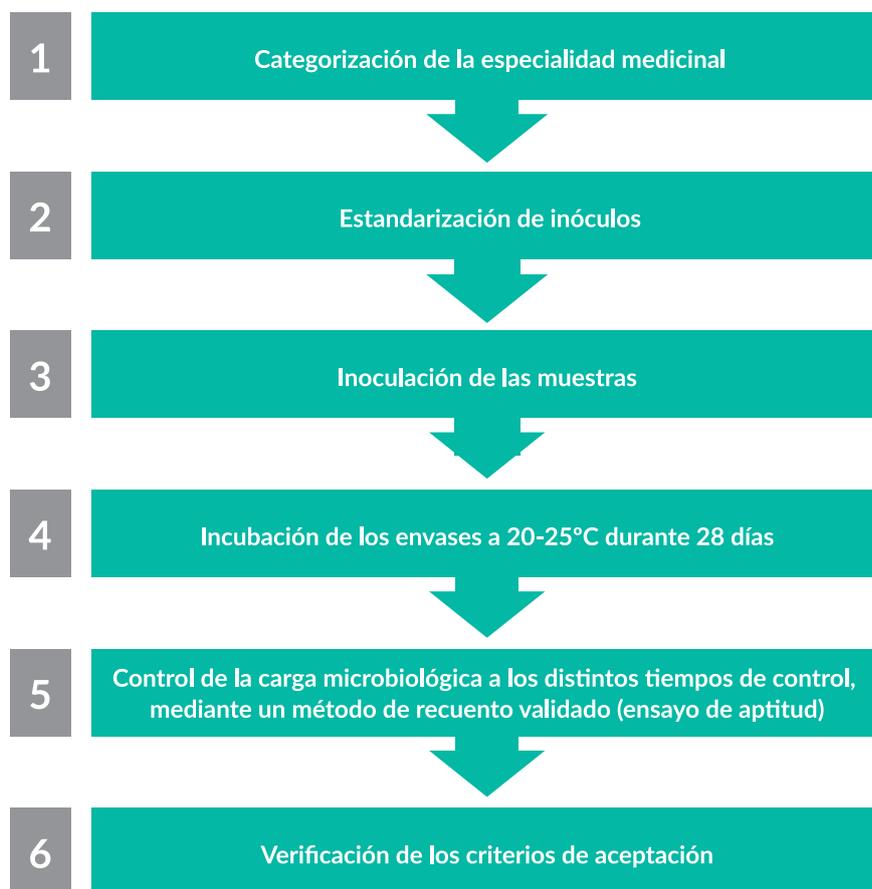


Figura 1: Descripción del proceso del ensayo de eficacia antimicrobiana.

RESULTADOS

Se realizó el muestreo de productos correspondiente a 49 soluciones oftálmicas multidosis con conservantes en su formulación para el tratamiento del glaucoma, fiscalizando 17 laboratorios titulares de especialidades medicinales.

Se ejecutaron los ensayos de eficacia antimicrobiana de todos los productos fiscalizados, concluyendo que 46 productos (94 %) alcanzaron las reducciones logarítmicas esperadas según especificaciones. Respecto del porcentaje restante, los resultados fueron insatisfactorios debido a que no se obtuvieron las reducciones logarítmicas establecidas para el microorganismo *Pseudomonas aeruginosa* (productos A, B y C). En la **Figura 2** se observan los resultados obtenidos respecto a las reducciones logarítmicas de los productos A, B y C.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La realización del ensayo de eficacia antimicrobiana es de gran importancia durante el desarrollo de las soluciones oftálmicas multidosis y luego de realizar cambios que impacten en las formulaciones de las muestras. En este sentido, es importante realizar una fiscalización continua en este tipo de productos ya que el uso crónico de productos farmacéuticos oftálmicos contaminados provoca graves infecciones oculares que perjudican la calidad de vida de los pacientes.

De la totalidad de productos analizados, 6,1 % de las especialidades medicinales (3 productos) no cumplieron las especificaciones establecidas por Farmacopea Argentina para el ensayo de eficacia antimicrobiana debido a que no se alcanzaron las reducciones logarítmicas esperadas para el microorganismo



Figura 2: Comportamiento de las muestras A, B y C con *P. aeruginosa*. Resultados obtenidos, reducciones logarítmicas a tiempos de control 7, 14 y 28 días, de los productos A (curva naranja), B (curva gris) y C (curva amarilla). La curva azul indica las reducciones logarítmicas a cumplir según normativa vigente.

Pseudomonas aeruginosa. Se realizó una evaluación cualitativa y cuantitativa de las formulaciones y una búsqueda bibliográfica de los excipientes y principios activos utilizados a modo de investigar las posibles causas de los resultados obtenidos. En primera instancia, se observó que dichos productos poseían cloruro de benzalconio (BAC) como conservante, dos de ellos en una concentración de 20 mg/100 ml y el tercero en una concentración de 5 mg/100 ml. Los resultados obtenidos guardan relación con la bibliografía consultada en cuanto a la resistencia de *P. aeruginosa* frente a distintas concentraciones de BAC^[18]. Respecto a este conservante, se conoce que está compuesto por una mezcla de cloruros de alquilbencildimetilamonio de fórmula general $[C_6H_5CH_2N(CH_3)_2R]Cl$, donde R representa una mezcla de alquilos, y dependiendo del origen de la materia prima, las cadenas hidrocarbonadas pueden variar desde 8 hasta 18 carbonos (n-C₈H₁₇ a n-C₁₈H₃₇)^[19]. El largo de estas cadenas posee gran dependencia en la actividad antimicrobiana del conservante y estudios sugieren que cuando R= n-C₁₄H₂₉ la actividad es mayor frente a *P. aeruginosa*^[20]. Dados los datos antes expuestos y los resultados satisfactorios obtenidos con el resto de las muestras que poseían la misma concentración de BAC, se concluye que es importante una evaluación exhaustiva de las materias primas que se utilizan en la producción de estas

especialidades medicinales, ya que puede ser una posible causa del incumplimiento del ensayo de eficacia antimicrobiana.

Además, se encontró que dos de los productos que no cumplieron especificaciones poseían como excipiente aceite de ricino polietoxilado (HCO-40) en una concentración de 500 mg/100 ml. Este compuesto es adicionado cuando las concentraciones del cloruro de benzalconio son elevadas, debido a que la combinación de BAC con HCO-40 genera una disminución de los efectos citotóxicos del conservante BAC sobre las células de la córnea^[21]. Varios estudios sugieren que las moléculas interactúan mediante enlaces hidrofóbicos e iónicos y estas interacciones conducen a una disminución en el número de moléculas de conservante libres lo cual suprime la toxicidad y a su vez el efecto antimicrobiano. Se evidenció que el uso de HCO-40 en bajas concentraciones reduce significativamente el efecto antimicrobiano de BAC frente a *P. aeruginosa* y otros microorganismos^[22]. La disminución del efecto antimicrobiano podría ser una causa del aumento de la carga microbiana de este microorganismo en las muestras analizadas. Asimismo, es importante destacar que se encontró bibliografía que demuestra que *P. aeruginosa* es capaz de utilizar HCO-40 como única fuente de carbono^[23] lo que también podría explicar los resultados obtenidos.

Finalmente, se postula al microorganismo *P. aeruginosa* como marcador para la selección de conservantes en soluciones oftálmicas, debido a su alta resistencia a agentes antimicrobianos, lo cual coincide con la bibliografía consultada^[18,24]. Asimismo, se resalta que la implementación del ensayo de eficacia antimicrobiana resulta esencial para garantizar la calidad y seguridad de los productos farmacéuticos en base acuosa multidosis a lo largo de su ciclo de vida, donde es crítico que el sistema conservador demuestre la capacidad de mantener la calidad microbiológica del producto.

Conflicto de intereses

Las autoras declaran no poseer conflictos de interés.

BIBLIOGRAFÍA

1. Flaxman S, Rupert RRA, Resnikoff S, Ackland P, Braithwaite T, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Glob Health*. 2017; 5(12): p. 1221-1234.
2. Kang JM, Tanna AP. Glaucoma. *Med Clin North Am*. 2021;105(3):493-510. DOI: 10.1016/j.mcna.2021.01.004
3. Weinreb RN, Khaw PT. Primary open-angle glaucoma. *The Lancet*. 2004;363(9422):1711-1720. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)16257-0
4. Hoyng PFJ, van Beek LM. Pharmacological Therapy for Glaucoma. *Drugs*. 2000;59(3):411-434. DOI: 10.2165/00003495-200059030-00003
5. Comisión permanente de la Farmacopea Argentina. *Farmacopea Argentina*. 7ma Edición. Argentina: Ministerio de Salud. 2013. Vol. IV.
6. Moser CL, Meyer BK. Comparison of compendial antimicrobial effectiveness tests: A review. *AAPS PharmSciTech*. 2011;12(01):222-226. DOI: 10.1208/s12249-010-9575-9
7. Cerra H, Fernández MC, Horak C, Lagomarsino M, Torno G, Zarankin E. *Manual de Microbiología Aplicada a las Industrias Farmacéutica, Cosmética y de Productos Médicos* [Internet]. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología; 2013. Capítulo II.5., Conservadores en productos farmacéuticos y cosméticos; [Citado 31 de julio de 2022]; p. 152-164. Disponible en: <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/manual-microbiologia-aplicada.pdf>
8. Comisión permanente de la Farmacopea Argentina. *Farmacopea Argentina*. Primer suplemento 7ª edición. Argentina: Ministerio de Salud. 2019. Capítulo <80>, Conservantes; p. 18-23.
9. Macian RS. *Problemas tecnológicos en la fabricación de medicamentos*. Barcelona: Editorial Académica Española; 2015.
10. Samadi N, Tarighi P, Fazeli MR, Mehrgan H. Evaluation of antimicrobial effectiveness of ophthalmic drops according to the pharmacopeial tests criteria. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009;17(01):13-18.
11. Russel AD. Challenge testing: principles and practice. *International Journal of Cosmetic Science*. 2003;25(03):147-153. DOI: 10.1046/j.1467-2494.2003.00179.x
12. Convención de la Farmacopea de Estados Unidos. *Farmacopea de Estados Unidos*. Segundo suplemento USP42-NF37. 2019. Capítulo <51>, Pruebas de Eficacia Antimicrobiana.
13. Dirección Europea de Calidad de los Medicamentos. *Farmacopea Europea*. 11ª edición. Francia: Consejo de Europa. 2023. Capítulo 5.1.3, Eficacia de la conservación antimicrobiana; p. 655-657.
14. Comisión de la Farmacopea Británica. *Farmacopea Británica*. Reino Unido: Agencia Reguladora de Medicamentos y Productos Sanitarios. 2022. Apéndice XVI C, Eficacia de la conservación antimicrobiana; p. VA559-VA560.
15. Pharmaceuticals and Medical Devices Agency. *Japanese Pharmacopoeia*. 18th edition. Japan: Minister of Health, Labour and Welfare. 2021. Chapter <G4-3-170>, Preservatives-Effectiveness Tests; p. 2688-2691.
16. Comisión permanente de la Farmacopea Argentina. *Farmacopea Argentina*. Primer Suplemento 7ª edición. Argentina: Ministerio de Salud. 2019. Reactivos y soluciones, p. 218-392.
17. Comisión permanente de la Farmacopea Argentina. *Farmacopea Argentina*. Primer suplemento 7ª Edición. Argentina: Ministerio de Salud. 2019. Capítulo <90>, Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles; p. 25-37.
18. Sakagami Y, Yokoyama H, Nishimura H, Ose Y, Tashima T. Mechanism of Resistance to Benzalkonium Chloride by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*. 1989;55(8):2036-2040. DOI: 10.1128/aem.55.8.2036-2040.1989
19. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sixth edition. London and Chicago: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association. 2009.
20. Richards RME, Mizrahi LM. Differences in antibacterial activity of benzalkonium chloride. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1978;63(3):380-383. DOI: 10.1002/jps.2600670329
21. Uematsu M, Kumagami T, Shimoda K, Kusano M, Teshima M, To H, et al. Polyoxyethylene Hydrogenated Castor Oil Modulates Benzalkonium Chloride Toxicity: Comparison of Acute Corneal Barrier Dysfunction Induced by Travoprost Z and Travoprost. *Journal of Ocular*

Pharmacology and Therapeutics. 2011;27(5):437-444. DOI: 10.1089/jop.2010.0175

22. Onizuka N, Uematsu M, Kusano M, et al. Influence of different additives and their concentrations on corneal toxicity and antimicrobial effect of benzalkonium chloride. *Cornea*. 2014;33(5):521-526. DOI: 10.1097/ICO.0000000000000086

23. García-Suárez E, Novoa J, Garcia J. Producción de biotensoactivos con *P. aeruginosa* empleando aceites vegetales como única fuente de carbono. En: X Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería; 2013; México.

24. Riegelman S, Vaughan DGJ, Okumoto M. Antibacterial agents in *Pseudomonas aeruginosa* contaminated ophthalmic solutions. *Journal of the American Pharmaceutical Association*. 1956;XLV(2):93-98. DOI: 10.1002/jps.3030450209



Esta obra está bajo una licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0). Atribución – Se debe dar crédito de manera adecuada, brindar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante. Sin restricciones adicionales – No se pueden aplicar términos legales ni medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otras personas a hacer cualquier uso permitido por la licencia.