

**Farmaceutická fakulta
v Hradci Králové
Univerzita Karlova**

Katedra Farmaceutické technologie

Hodnocení stejnoměrnosti dávkování veterinárních očních kapek

Evaluation of uniformity of dose of veterinary eye drops

Rigorózní práce

V Hradci Králové, 2024

Mgr. Jana Marková

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně ocitovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne:

Podpis:

Poděkování:

Děkuji paní docentce Šklubalové za odborné vedení práce.

Obsah

1	Abstrakt	5
2	Abstract.....	6
3	Seznam zkratk	7
4	Zadání a cíle práce.....	8
5	Úvod	9
6	Teoretická část	10
6.1	Oční přípravky	10
6.2	Složení očních přípravků.....	10
6.2.1	Protimikrobní přísady	11
6.2.2	Ostatní pomocné látky	14
	Izotonizační přísady	14
	Viskozitní přísady	15
6.2.3	Specializované systémy	15
6.3	Faktory ovlivňující velikost kapky.....	21
7	Experimentální část	24
7.1	Použité suroviny	24
7.2	Použité přístroje	24
7.3	Použité metody	24
7.3.1	Fyzikálně-chemické vlastnosti přípravku	25
7.3.2	Hodnocení hmotnosti kapek	26
7.3.3	Zpracování dat	27
8	Výsledky a diskuze.....	28
8.1	Fyzikálně-chemické vlastnosti přípravku	28
8.2	Hodnocení hmotnosti kapky při manuálním kapání	29
8.2.1	Standardní dispenzační režim	30
8.2.2	Režim rychlého kapání	40
8.2.3	Porovnání vlivu režimu kapání na hmotnost kapky při manuálním kapání	

8.3	Hodnocení hmotnosti kapky při kapání prototypem.....	53
8.3.1	Standardní dispenzační režim	53
8.3.2	Režim rychlého kapání	57
8.3.3	Porovnání vlivu rychlosti kapání na hmotnost kapky produkované prototypem.....	61
8.4	Porovnání manuálního kapání a prototypu	62
9	Závěry	65
10	Použitá literatura	67

1 Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra:	Farmaceutická technologie
Školitel:	doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.
Posluchač:	Mgr. Jana Marková
Název diplomové práce:	Hodnocení stejnoměrnosti dávkování veterinárních očních kapek

Rigorózní práce studuje vliv dispenzačního úhlu a zbytkového objemu náplně lahvičky na hmotnost kapky při dispenzaci komerčních očních kapek pro vakcinaci při dvou režimech kapání. Manuální dispenzace pomocí konvenčního dávkovacího systému složeného z lahvičky a kapátka je porovnána s dávkováním pomocí prototypového zařízení, který produkuje kapky při dispenzačním úhlu 45°. Byl potvrzen významný vliv dispenzačního úhlu na hmotnost kapky při manuálním kapání; snížením úhlu z 90° na 45° se hmotnost snížila. Při standardním dispenzačním režimu pomalého kapání vedlo snížení zbytkového objemu přípravku v lahvičce k významnému zmenšení kapky pro manuální systém i prototyp. Ve většině případů byly při standardním dispenzačním režimu pomalého kapání zaznamenány kapky s vyšší hmotností oproti rychlejšímu režimu kapání. Bez ohledu na použitý režim kapání produkoval prototyp oproti manuálnímu dispenzačnímu systému větší kapky, za kratší čas potřebný pro dispenzaci deseti kapek a s nižší variabilitou.

2 Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of:	Pharmaceutical technology
Consultant:	doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.
Student:	Mgr. Jana Marková
Title of Thesis:	Evaluation of uniformity of dose of veterinary eye drops

The thesis studies the effect of dispensing angle and residual volume on drop mass produced by commercially available eye drops for vaccination using two dispensing regimes. Manual dispensing regime done via commercial dispensing system which consists of a plastic bottle and a dropper is compared to dispensing regime done via prototype device which produces drops at an angle of 45°. Experiment confirmed significant effect of dispensing angle on drop mass produced by manual dispensing regime; by decreasing the dispensing angle from 90° to 45° the drop mass has decreased. Standard dropping rate had significantly decreasing drop mass with decreasing residual volume in the bottle for manually produced drops and also the for the prototype produced drops. When comparing the standard dropping rate and fast dropping rate, higher drop mass was recorded mostly for the standard dropping rate. Disregarding the dropping rate, higher drop mass was recorder for the drops produced by the prototype device, with shorter dispensing time needed for producing ten drops in a row and with lower variability compared to manual regime.

3 Seznam zkratek

Zkratka	Význam	Jednotky
BAK	Benzalkonium-chlorid	
COMOD	Continuous monodose system	
K	Konstanta viskozimetru	mm ² /s
M	Teoretická hmotnost kapky	mg
m	Hmotnost	mg
OSD	Ophthalmic Squeeze Dispenser	
PQ-1	Polyquarternium 1	
SD	Směrodatná odchylka	
η	Dynamická viskozita	mPa·s
σ	Povrchové napětí	
ρ	hustota	g/ml
RRK	Režim rychlého kapání	
SDR	Standardní dispenzační režim	
t	Čas	s
ν	Kinematická viskozita	mm ² /s
V	Objem	ml

4 Zadání a cíle práce

Rigorózní práce se věnuje hodnocení dávkové stejnoměrnosti komerčních veterinárních kapek pro vakcinaci v chovech kuřat z pohledu manuálního kapání konvenčním dávkovacím systémem kapací lahvička/kapátko a automatického kapání pomocí nově navrženého prototypu dávkovacího zařízení. S ohledem na výše uvedené je cílem práce v teoretické části zpracovat aktuální rešerši faktorů, které dávkování očíh kapek ovlivňují.

V experimentální části bude hodnocen vliv různých faktorů na hmotnost kapky:

- vliv úhlu kapání 90° a 45°
- vliv zbytkového objemu přípravku v lahvičce (30 ml, 15 ml, 7,5 ml)
- vliv použitého dispenzačního designu (standardní rychlost vs rychlé kapání)
- produktivita kapání (jako čas potřebný k nakapání 10 kapek)

Výsledky pro manuální kapání budou porovnány s automatickým kapáním pomocí prototypu nově navrženého dispenzačního zařízení. Bude sledována rovněž variabilita dávky.

5 Úvod

Oční kapky se používají k léčbě různých očních chorob jako jsou například infekce, suchost očí, podráždění či alergie. Obsahují různé účinné látky a ty spolu s pomocnými látkami utváří lékovou formu zajišťující správnou léčbu.

Oční kapky jsou dnes běžně užívanou lékovou formou. Jsou dostupné převážně v plastových lahvičkách, ale výjimkou nejsou ani skleněné lahvičky. Rozlišujeme různé druhy kapátek, kterým je každá lahvička opatřena. Kapátka jsou navržena tak, aby dispenzovaná kapka měla vhodnou hmotnost a tím bylo zajištěno podání co možná nejpřesnější dávky do pacientova oka.¹ Podobné požadavky jako pro humánní přípravky platí také ve veterinárním využití.

V experimentální části této rigorózní práce byl kromě standardního dispenzačního systému, tj. lahvičky a kapátka, hodnocen i prototypový přístroj. Ten byl vyvinut pro veterinární účely a jeho účelem je usnadnit práci chovatelům při očkování velkého počtu jedinců. Rychlost očkování celého chovu je stěžejní, při příliš pomalé vakcinaci totiž může docházet k předání očkovaného kmenu bakterií z očkovaných zvířat na neočkované. Očkování jedinci si vybudují imunitu, která pak vydrží u chovu přibližně jeden rok.

6 Teoretická část

6.1 Oční přípravky

Český lékopis definuje oční přípravky (*Ophthalmica*) jako sterilní tekuté, polotuhé nebo tuhé přípravky určené k podání na oční bulvu a spojivku nebo k vložení do spojivkového vaku.² Na složení těchto sterilních lékových forem, stejně jako na výrobu či obalový materiál jsou kladeny vyšší nároky než na nesterilní lékové formy. Veškeré požadavky na sterilitu, obalový materiál a výrobu jsou lékopisem jasně definované a každý výrobce je povinen se jimi řídit.

Kromě vlastní účinné látky, která ovšem nemusí být přítomna, jsou častou přísadou očních přípravků pomocné látky, které plní různé funkce jako např. upravují osmotické vlastnosti, viskozitu, hodnotu pH, působí antioxidačně a protimikrobně.

Lékopis rozlišuje a blíže specifikuje několik druhů očních přípravků:

- a. Oční kapky
- b. Oční vody
- c. Prášky pro oční kapky a oční vody
- d. Polotuhé oční přípravky
- e. Oční inzerty

Všechny výše zmíněné oční přípravky musí vyhovovat zkoušce na sterilitu.²

6.2 Složení očních přípravků

Z hlediska výběru formy léčivého přípravku pro léčbu očních onemocnění je třeba rozlišit, zda je cílem přední nebo zadní oční segment. Oční kapky ve formě roztoků či suspenzí nebo polotuhé oční přípravky se používají k léčbě předního segmentu z důvodu snadné aplikace a nižších nákladů. Limitující faktor očního podání přípravků je nízká absorpce, kdy se do komorové tekutiny nedostane více než 5 % podaného léčiva. Zároveň dochází k systémové absorpci podaného léčiva, což může při pravidelném užívání pro organismus představovat rizika toxicity.³

Do jaké míry se léčivo absorbuje ovlivňují také jeho fyzikálně-chemické vlastnosti. Optimální vlastnosti přípravku, jako např. jeho viskozita, povrchové napětí, pH,

hustota a také osmotické vlastnosti, patří mezi hlavní cíle při jejich vývoji a výrobě. Vlastnosti očního přípravku přímo souvisí se snadností aplikace, průnikem přes oční bariéry nebo s dobou, kterou přípravek dokáže setrvat na očním povrchu. Mezi pomocné látky řadíme protimikrobní přísady, antioxidační přísady, izotonizační přísady, přísady upravující aktuální aciditu, tenzidy a látky upravující viskozitu.⁴

6.2.1 Protimikrobní přísady

Nezbytnou a velice důležitou součástí vícedávkových očních kapek je protimikrobní přísada pro zábranu kontaminace.⁵ Přítomnost mikroorganismů v očních přípravcích a jejich následný transfer do oka by mohl znamenat nebezpečí v podobě očních infekcí, které by v závislosti na druhu mikroorganismu mohlo vyústit ve složitou léčbu. Proto je nezbytné zabránit sekundární kontaminaci výběrem vhodné protimikrobní látky o vhodné koncentraci, která mikrobiální nezávadnost po požadovanou dobu zajistí.⁶ Protimikrobní látka nesmí ovlivňovat fyzikální vlastnosti celého přípravku a musí být netoxická. Vhodná protimikrobní látka rychle inaktivuje mikroorganismy, působí mikrobicidně v nízké koncentraci a při širokém pH, je stabilní a dobře rozpustná a to především ve vodě.⁴ Mimo specializované systémy jako např. COMOD® nebo ABAK®, je přidávání konzervantů nutností u vícedávkových obalů, což výrazně prodlužuje lhůtu použitelnosti očních přípravků.⁷ Jaká protimikrobní látka je při výrobě očních kapek použita závisí na požadovaných vlastnostech a složení kapek, protože pomocná látka musí být kompatibilní s ostatními složkami přípravku. Dále musí splňovat požadované protimikrobní spektrum účinku.⁸ Studie ukázaly, že přísady poskytující antimikrobiální ochranu sice chrání samotný přípravek před kontaminací, ale oči přitom mohou i dráždit. Některé konzervační přísady poškozují oční tkáň, a to především pacientů chronicky užívajících tyto oční přípravky.⁹

Protimikrobní látky můžeme rozdělit do několika skupin dle chemické struktury:

- Kvarterní amoniové sloučeniny (Quaty) – do této skupiny se řadí benzalkonium-chlorid, benzethonium-chlorid, Polyquad® či centrimid.
- Sloučeniny rtuti – od sloučenin rtuti, např. thiomersal, se v poslední době upouští, a to hlavně kvůli potenciální toxicitě.
- Chlorhexidin – používá se ve formě soli – chlorhexidin acetát a chlorhexidin hydrochlorid.
- Alkoholy – např. fenylethylalkohol, chlorbutanol.
- Purite® - pod tímto obchodním názvem je stabilizovaný oxychlorokomplex, směs sloučenin chloru, patřící do druhé generace protimikrobních látek penetrující membránu mikroorganismů a následně způsobující změnu v jejich DNA, proteinech a lipidových složkách. Jeho výhoda spočívá v nižší toxicitě v porovnání s quaty.¹⁰

Benzalkonium-chlorid (BAK) je nejpoužívanější protimikrobní látka obsažená ve vícedávkových očních kapkách v koncentraci 0,004-0,02 %. Patří do skupiny quatů. Quaty působí baktericidně narušením plasmatických membrán bakterií, to vede k nestabilitě membrány a následné lýze buňky.⁹ Působí jak proti gram-positivním, tak i proti gram-negativním bakteriím. Mezi přednosti BAK se řadí i schopnost zlepšení penetrace aktivní látky přes rohovku. Existují ovšem doklady o tom, že působí cytotoxicky na buňky oční tkáně mechanismem dosud vědecky nepotvrzeným. Jedna z možných teorií uvádí interakci s mitochondriální membránou buněk rohovkového epitelu díky formě kvarterní amoniové soli. Krátkodobá expozice tak údajně vede ke stimulaci produkce peroxidu vodíku rohovkovým epitelem, který má za následek částečnou mitochondriální dysfunkci. Ukázalo se, že BAK je spouštěčem oxidativního stresu v mitochondriích a ochromuje jejich téměř veškerou funkci.⁹

Polyquaternium ammonium chlorid (polyquaternium 1, ve zkratce PQ-1) je velice efektivní protimikrobní látka odvozená od BAK, která byla zprvu používána v desinfekčním roztoku očních čoček, později pak jako protimikrobní látka v očních přípravcích k léčbě suchého oka či glaukomu. Polyquad je klasifikován jako méně

toxický než BAK.¹¹ Mechanismus účinku spočívá v narušení mikrobiální plasmatické membrány, avšak díky své vyšší molekulární hmotnosti se předpokládá, že je molekula příliš velká na to, aby pronikla do buněk savců. Během let, co je molekula známá, bylo provedeno mnoho studií in vitro, na zvířecích modelech či v klinické praxi, které porovnávaly oční kapky s obsahem BAK a PQ-1 či PQ-1 s očními kapkami bez konzervantů. Přípravky s PQ-1 byly vždy oproti těm s obsahem BAK lépe tolerovány. Žádný rozdíl v toleranci nebyl zaznamenán při porovnání očních kapek s PQ-1 a těmi bez protimikrobních látek po tříměsíčním užívání. Za nižší toxicitou může stát i dříve sledovaná vlastnost PQ-1, konkrétně vyšší afinita k bakteriálním buňkám než epiteliálním buňkám rohovky. Výsledky poukazují tedy na lepší toleranci, menší narušení buněk očního povrchu a tím i fyziologického prostředí oka v porovnání s BAK.^{4, 5, 12, 13, 14}

Problém protimikrobních látek se skrývá především v očních kapkách používaných chronicky, například na mírnění symptomů syndromu suchého oka nebo glaukomu, tedy při každodenním používání. Chronickým používáním BAK se objevují nežádoucí účinky, jejich výskyt a frekvence jsou závislé na délce terapie. Mezi reportované nežádoucí účinky z různých klinických studií se objevuje pocit pálení oka a jeho bodavá bolest, pocit cizího tělesa v oku, suchost oka, slzení nebo svědivá oční víčka. Na molekulární úrovni probíhá zánětlivá reakce buněk spojivkového epitelu spolu se snížením počtu pohárkových buněk. Díky průtokové cytometrii bylo zjištěno, že i asymptomatictí pacienti mají zvýšenou hladinu zánětlivých markerů buněk očního povrchu.⁵

Výše zmíněné symptomy ústí ke snížení kvality života a následně k nedodržování doporučeného užívání. BAK-způsobená toxicita musí být správně diagnostikována a následně je zapotřebí, aby byly podniknuty kroky k eradikaci způsobených onemocnění, protože se může objevit jak po používání, které trvá týdny, tak i po jediném použití.⁹

Zatímco BAK-způsobená toxicita se může projevit i po jednorázovém užití očních kapek s tímto konzervantem v koncentraci 0,01 %, studie, kde jako model sloužil rekonstituovaný epitel rohovky ukázala, že v případě cetrimidu a Purite® k toxicitě

dojde až s chronickým užíváním. Rekonstituovaný epitel rohovky je validovaný model lidského rohovkového epitelu nahrazující testování na zvířatech a vědcům umožňující prediktivní přístup k posouzení podráždění očí a identifikaci potenciální toxicity v očních kapkách, stejně jako chronické toxicity pozorovatelné na povrchu oka. Ve studii vědci zjistili, že toxicita po dlouhodobém vystavování očního povrchu konzervantům (cetrimid, Purite) vede ke srovnatelné toxicitě jako po užívání BAK 0,01 %. Je proto doporučováno, aby se lékaři vyhýbaly předepisování očních kapek obsahující konzervanty chronicky užívajícím pacientům, pokud je to možné.¹⁵ Ačkoli chronické používání očních kapek s obsahem protimikrobních látek prokazatelně očnímu povrchu škodí, dosud neexistují dostatečně silná data z klinických studií naznačující vyšší bezpečnostní profil očních kapek bez konzervačních látek v porovnání s daty přípravků obsahujících protimikrobní látky.¹⁶

6.2.2 Ostatní pomocné látky

Voda na injekci či sterilizovaná čištěná voda jsou nejčastějšími rozpouštědly při přípravě očních kapek. Další složky kromě léčivé látky plní různé funkce a tím zajišťují požadované vlastnosti očních kapek. Izotonizační a viskozitní přísady a tenzidy jsou podrobněji rozebrány níže, do skupiny pomocných látek řadíme také již výše zmíněné protimikrobní přísady a dále např. antioxidanty či tlumivé přísady.⁴

Izotonizační přísady

Tonicita je definována jako míra gradientu efektivního osmotického tlaku dvou roztoků oddělených polopropustnou membránou. Je to veličina bezrozměrná a je rovna relativní koncentraci rozpuštěných látek, které neprojdou membránou.¹⁷

U očních přípravků je požadavkem hodnota tonicity přibližně se shodující s fyziologickou hodnotou slz. Zdravé lidské oko je schopno tolerovat poměrně široký rozsah osmotického tlaku předtím, než pacient pocítí diskomfort. Hodnoty tonicity se u očních přípravků mohou pohybovat v rozmezí od 220 do 640 mOsm, odpovídající koncentraci chloridu sodného 0,6 – 2,0 %.^{4, 18} Pro eliminaci bolestivosti po aplikaci očních přípravků je důležitá izotonicita.

Nejčastěji používanou izotonizační přísadou pro oční kapky je chlorid sodný. V případě inkompatibilit chloridu sodného s jinými složkami roztoku jako jsou například stříbrné ionty, olovo nebo rtuť, se používá jako izotonizační přísada dusičnan draselný. Výhoda dusičnanu draselného je i jeho vlastní protimikrobní aktivita.⁴

Viskozitní přísady

Viskozitní přísady jsou látky, které se přidávají k očním přípravkům s cílem ovlivnit jejich tekutost a dosáhnout tím požadované konzistence očního přípravku či jiných vlastností. Viskozita je fyzikální veličina charakterizující vnitřní tření kapaliny. Viskozitní přísady tvoří polymery, tedy látky s vyšší molární hmotností. U očních kapek se viskozitní přísady používají za účelem prodloužení doby kontaktu očních přípravků s okem, kdy se po smíchání se slzným filmem projevují jejich mukoadhezivní vlastnosti zároveň mající lubrikační efekt. Dále se používají např. ke zvýšení stability suspenzních očních přípravků. Optimální viskozita je u očních kapek mezi 15–25 mPas. Výjimku tvoří umělé slzy, které mají viskozitu vyšší, až 50 mPas. Nejčastěji používanými viskozitními přísadami je dextran a deriváty celulosy, které jsou biologicky kompatibilní a netoxické.^{4, 19, 20}

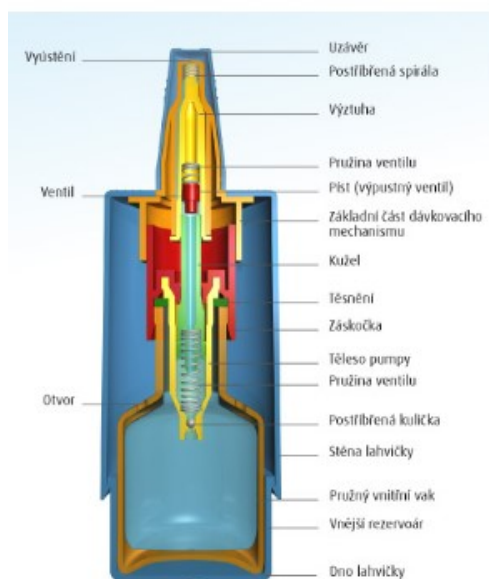
6.2.3 Specializované systémy

Patentované systémy dávkování kapek mohou být odpovědí na otázku, jak se vyhnout používání protimikrobních látek. U těchto systémů převažují dvě technologie, a to buď filtrační systém zabraňující kontaminaci obsahu lahvičky ze vzduchu nebo komplexní systém ventilů, kde se potenciálně kontaminovaný obsah nebo vzduch nedostane do kontaktu se zbytkem obsahu lahvičky. Nejznámější systémy na našem trhu jsou COMOD®, ABAK® a 3K®. Dále však existují i jiné systémy mimo náš trh, a to systémy Ophthalmic Squeeze Dispenser (OSD) a Novelia® vícedávkový systém.

COMOD®

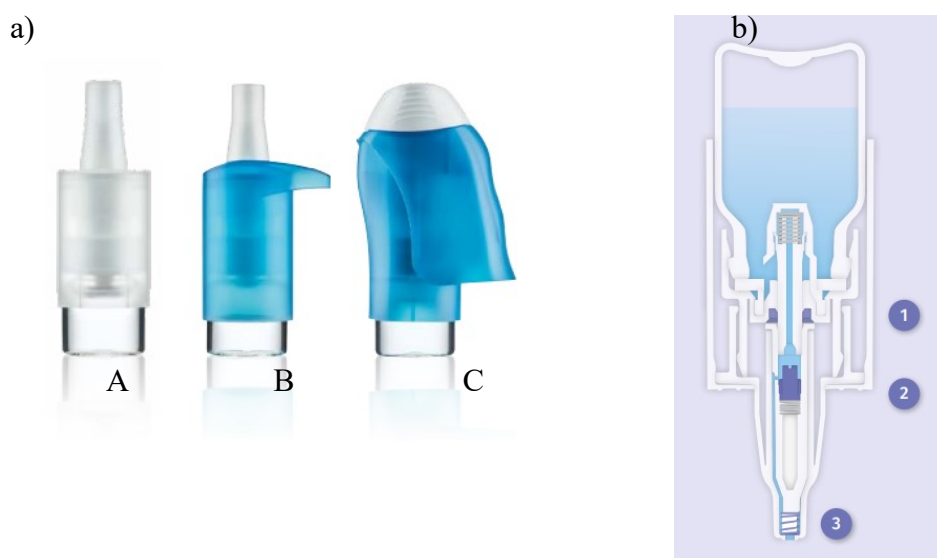
Zkratka COMOD® je složena ze dvou anglických slov, a to COntinuous MOnoDose-system, které se dají volně přeložit jako kontinuální jednodávkový systém. Koncept spočívá v pružném dvoustěnném rezervoáru a dávkovacím mechanismu, jehož

součástí je pumpička, která díky dvěma ventilům pracuje bez přístupu vzduchu (obr. 1).⁷ Vnitřní stěna rezervoáru se postupně deformuje a tlak se vyrovnává nasátím vzduchu do prostoru mezi stěnami rezervoáru. Zároveň se díky negativnímu tlaku plní do kapiláry (na obr. 1 popsáno jako „kužel“) další dávka, a to v momentě, kdy je předchozí aplikována. Vzduch tak nepříjde do kontaktu s obsahem lahvičky a oční kapky jsou použitelné po dobu až šesti měsíců. Zachování mikrobiální nezávadnosti navíc napomáhají mimo horního pístu i postříbřené části pumpičky – spirála v ústí kapátka a kulička ve spodní části mechanismu. Na rozdíl od běžné formy aplikace očních kapek stisknutím boční stěny lahvičky se se systémem COMOD® postupuje následovně: lahvička se uchopí mezi palec, který se umístí na horní část lahvičky ke kapátku, a ukazováček, který se položí na dno lahvičky. Ta se obrátí dnem vzhůru a pohybem palce a ukazováčku proti sobě dojde ke stlačení a pohybu dávkovacího mechanismu, který dispenzuje právě jednu kapku. V lékárnách je tento systém dostupný jak na volný prodej jako zdravotnický prostředek (HYLO COMOD®), tak i na lékařský předpis (Timo-COMOD®).²¹



Obr. 1: Popis mechanismu systému COMOD®⁷

Společnost UrsaPharm stojí také za 3K®-systémem, který je systému COMOD® svým mechanismem velice podobný. Rozdíl je v pumpičce, která v porovnání s bezvzduchovým COMOD® pracuje se vzduchem. Nezbytnou součástí tohoto systému je tudíž filtr, přes který přichází vzduch proudí a je tím zaručena ochrana přípravku před kontaminací. Na obr. 2a jsou zobrazeny dostupné možnosti designu systému pro oční kapky lišící se ve stylu aplikace, která probíhá stejně jako u výše popsaného COMOD® - největší podobnost je přitom s lahvičkou A. Aplikace lahvičkou C se pak více podobá aplikaci sprejem, kdy se lahvička uchopí klasicky mezi palec a další prsty ruky a stisknutím směrem k sobě dojde k uvolnění dávky. Obrázek 2b popisuje mechanismus – filtr (1), ventil (2) zabraňující vrácení se rezidua zpět do lahvičky a oligodynamické kapátko (3) předcházející svým tvarem a obsahem stříbra mikrobiálnímu růstu ve špičce kapátka.^{22, 23} Na českém trhu tento systém našel uplatnění spíše v podobě nosních sprejů.²⁴



Obr. 2: a) Designy aplikátoru kapátka systému 3K®. b) Mechanismus systému 3K®.²³

ABAK®

Nejméně mechanicky komplexní systém je právě ABAK®. V roce 1989 přišla první generace ABAK® na trh garantující dispenzaci očních kapek bez konzervantů. Princip první generace spočíval v adsorpci konzervantů a bohužel i určitého množství léčivých látek ve filtrační komoře, kterou náplň lahvičky procházela před aplikací. Hydrofilní

filtr po zvlhčení nebyl schopný nasát vzduch do lahvičky, proto měla lahvička snadno deformovatelný vnitřní obal a pevný vnější obal, kdy se vzduch zpět nasál pouze do prostoru mezi tyto dvě vrstvy, tudíž nepřišel do kontaktu s náplní (obr. 3). Nevýhodou bylo, že čím méně náplně bylo v lahvičce, tím více síly musel pacient vynaložit na dispenzaci další kapky.

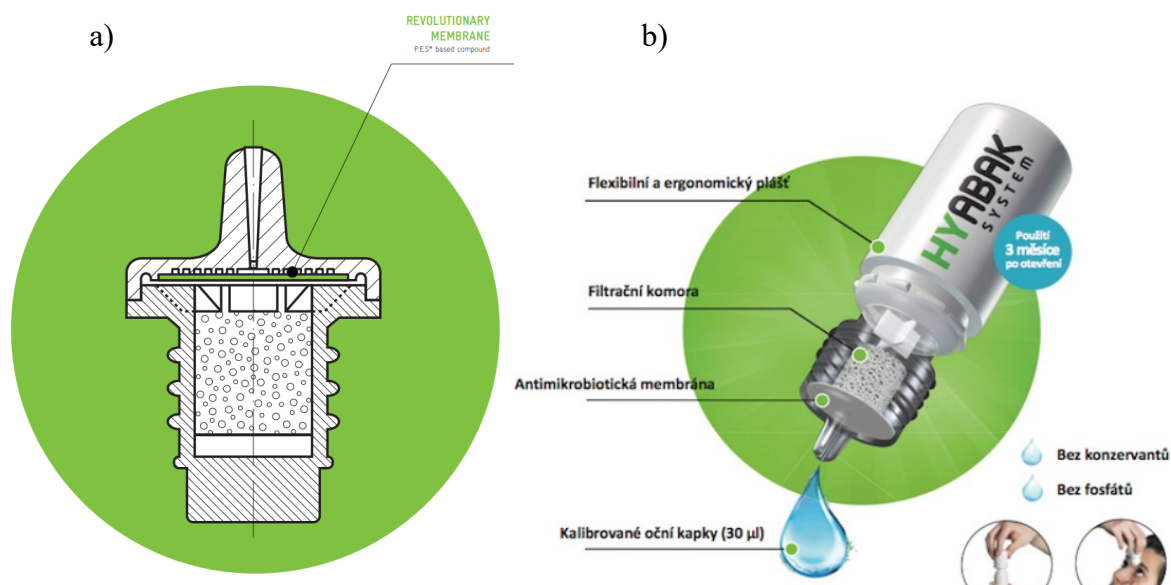
Podobný princip se uplatnil u druhé generace, která již obsahovala náplň bez konzervačních látek (obr. 3).



Obr. 3: První (nahore) a druhá (dole) generace ABAK® systému s viditelností vnitřního deformovatelného obalu.²⁵

V roce 2005 firma uvedla na trh třetí generaci, kterou známe i dnes. Systém zaručuje dispenzaci kapek o objemu 30 μl v každé dávce a to díky kombinaci vlastností kapacitního systému a kroužku vytvarovaného na konci kapátka, který v závislosti na prahových hodnotách viskozity uvolňuje kapky a umožňuje tak jejich kalibraci. Po stisku boční stěny lahvičky, pro který není potřeba vyvinout příliš velký tlak, náplň projde přes mikroporézní filtr ve filtrační komoře a dále pokračuje patentovaným systémem s membránou s velikostí pórů 0,2 μm (obr. 4). Právě tato hydrofilní membrána, která má hydrofobně upravený povrch umožní průchod vzduchu zpět do lahvičky – vlastnost, která přechozím dvěma generacím chyběla. Kombinace mikroporézního filtru a polymerní membrány umožňuje kapkám použitelnost bez

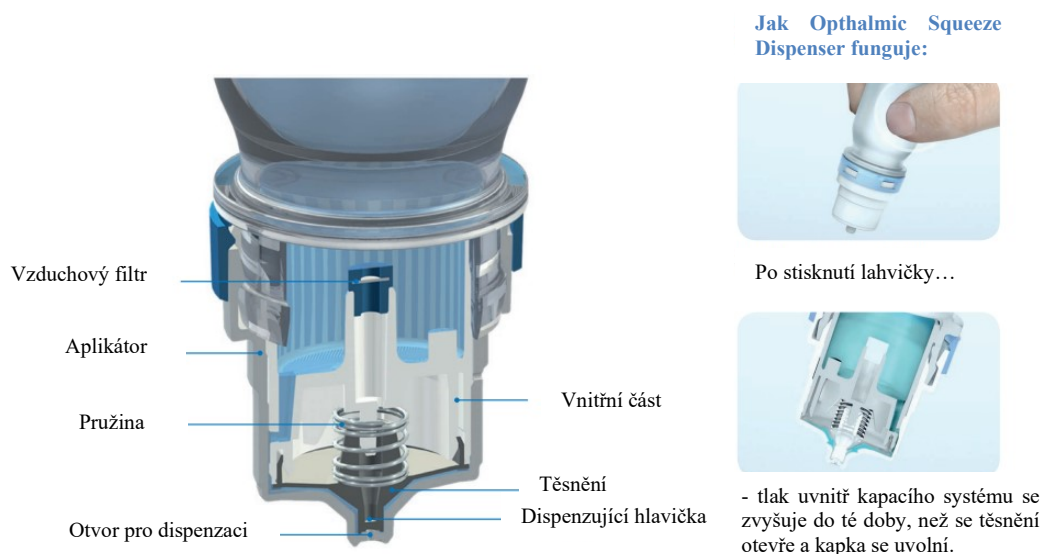
kontaminace po dobu tří měsíců. V lékárnách je systém součástí přípravků jak na volný prodej (Hyabak), tak i na recept (Cosopt).^{25, 26}



Obr. 4: a) Systém ABAK® třetí generace s bifunkční membránou.²⁵ b) Detailnější popis systému ABAK®.²⁶

Ophthalmic Squeeze Dispenser (OSD) (Aptar Pharma)

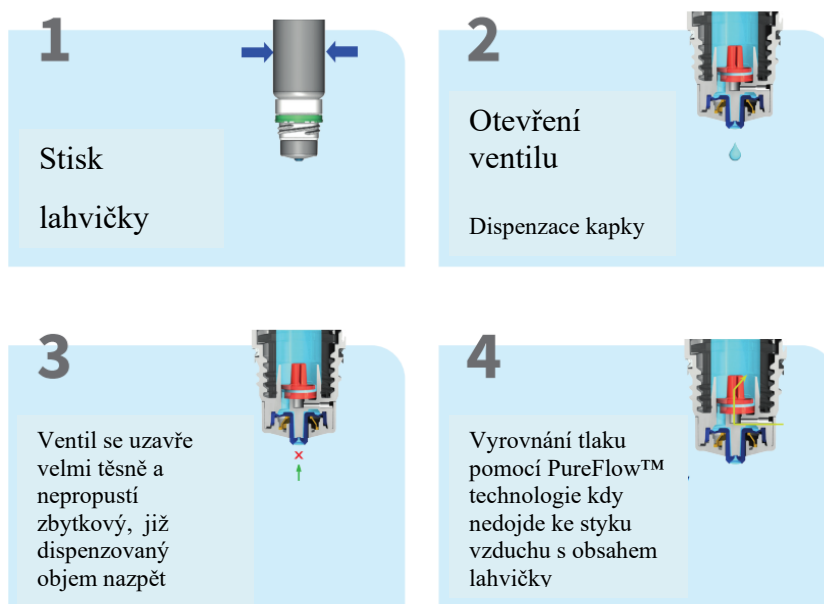
Tento dvoukanálový systém se skládá ze vzduchového filtru, pružiny, aplikátoru, středové vložky, těsnícího hrotu a kapátka (obr. 5). Stisknutím lahvičky dojde ke zvýšení tlaku uvnitř lahvičky, který je poté potřebný k vytlačení určitého objemu náplně lahvičky do kanálku a k nadzvednutí těsnícího hrotu. Po dispenzaci kapky definovaného objemu se těsnící hrot díky pružině opět těsně uzavře. Otvorem na boční straně kapacího systému do lahvičky proudí vzduch přes 0,2 µm membránový filtr a tím se vyrovná tlak v lahvičce. Objem dispenzované kapky závisí na velikosti lahvičky a viskozitě náplně.²⁷



Obr. 5: Kapátko Ophthalmic Squeeze Dispenser s popsanými částmi kapátka²⁷

Novelia® systém

Principy jednosměrného ventilu a zároveň filtrace vzduchu se uplatnily u systému Novelia®, kdy ventil po stlačení lahvičky a zvýšení tlaku uvnitř lahvičky dispenzuje kapku definovaného objemu, ale už nepustí nic zpět do lahvičky díky okamžitému těsnému uzavření právě pomocí jednosměrného ventilu. Pro vyrovnání tlaku je i zde odvzdušňovací systém se silikonovou membránou nazvaný PureFlow™ technology. Jako prevenci mikrobiálního růstu na povrchu kapátka nebo v residuálním zbytku náplně je víčko opatřeno stříbrnými ionty. Pro požadovanou velikost kapky je nutné vybrat správný rozměr vnitřní kapiláry, při kterém hraje roli i viskozita produktu – objem tak může být od 28 μ l až do 46 μ l. Další patentovaná vlastnost systému je modrá špička kapátka, odkud se kapka dispenzuje, a to proto, aby byla pacienty snáze rozeznatelná. Celý popis dispenzace spolu se zobrazeným kapátkem je na obr. 6. Novelia® se využívá například v očích kapkách Systane.²⁸



Obr. 6: Novelia® dispenzační systém s popisem dispenzace kapky.²⁸

6.3 Faktory ovlivňující velikost kapky

Pro většinu lidí představuje aplikace očních kapek běžnou činností, a to až tak běžnou, že zapomínají na pravidla správné aplikace. Správná aplikace totiž ve většině případů ovlivňuje, jakou velikost bude dispenzovaná kapka mít. Jako ideální objem kapky se uvádí 20 μl .²⁹ Tím se zredukuje odvod přebytečného objemu do nosu, hltanu a následně gastrointestinálního traktu a sníží se systémová absorpce spojivkou, která má řádově vyšší permeabilitu než rohovka. Přes rohovku se do oka dostane většinou méně než 5% podaného léčiva.³⁰ Jakou bude mít výsledná kapka velikost zpravidla záleží na třech skupinách faktorů: design a vlastnosti kapacího systému (lahvičky + kapátka), fyzikálně-chemické vlastnosti přípravku a také pacientovo zacházení s lahvičkou. Nejdůležitějšími faktory pak jsou průměr vnitřní kapiláry, povrchové napětí a viskozita přípravku a úhel dispenzace spolu s dispenzační rychlostí.^{1, 29} Faktory ovlivňující velikost dávky, tedy jedné kapky, se dají rozdělit do dvou hlavních skupin, a to na faktory technologické a faktory dispenzační.

Technologické faktory

Skupinu technologických faktorů primárně ovlivňuje výrobce. Ten se při formulaci přípravku musí řídit požadavky léčiva a lékopisnými požadavky na výsledný produkt,

tj. musí být sterilní s objemem do 10 ml. Ochrana vícedávkových kapek je zajištěna přidáním vhodné protimikrobní přísady.⁴ Obaly očních přípravků musí být z vhodného materiálu. Oční kapky ve formě roztoku musí být prakticky čiré a bez částic, suspenzní oční přípravky mohou mít snadno roztřepatelný sediment, avšak musí být natolik stabilní, aby bylo možné podání správné dávky. Oční kapky kromě zkoušky na sterilitu musí ty ve formě suspenze dle lékopisu vyhovovat zkoušce na velikost částic.² Lékopisná zkouška na dávkovou stejnoměrnost není definována a variabilita dávky je až 20 %.^{1, 4, 29, 31}

Mezi technologické faktory tedy řadíme tvar a vlastnosti kapátka a lahvičky a fyzikálně-chemické vlastnosti přípravku – viskozitu spolu s povrchovým napětím a hustotou. Velikost kapky může být nepřímo ovlivněna i teplotou, která přímo ovlivní viskozitu či vlastnosti plastové lahvičky, výsledkem může tedy být v případě zvýšené teploty nižší viskozita přípravku a tím vzniklá potřeba aplikovat menší sílu pro stisk lahvičky (vznikne kapka s vyšší hmotností). Nízká teplota má vliv přesně opačný.^{1, 4} Kapátka mohou být geometricky definovaná do mnoha tvarů, na výslednou velikost kapky má primární vliv obvod ústí kapací kapiláry. Při rozlišování kapátek dle tvaru zakončení mohou být rozdělena na plochá a zaoblená. Tvar zakončení má pak vliv na případné smáčení kapátka při snížení dispenzačního úhlu. Smáčení se pozorujeme především u kapátek zaoblených, u kterých je pak problém přesně definovat jejich efektivní obvod. Hmotnost kapky je pak velice variabilní.^{4, 32}

Dispenzační faktory

Dispenzační faktory jako je způsob manipulace s očními přípravky jsou přímo ovlivňované pacientem. Pacient by se měl přitom řídit doporučeným postupem aplikace, kdy je mezi pravidla zařazena svislá poloha lahvičky jejíž kapátko se nedotýká oka ani řas. Poloha lahvičky neboli dispenzační úhel je jeden z hlavních faktorů ovlivňující velikost kapky. Jak už je zmíněno výše, velikost kapky se odvíjí od velikosti efektivního obvodu kapátka, který se zmenšuje s nakloněním lahvičky a snížením dispenzačního úhlu. Studie ukázaly, že ideální velikost kapky by se měla pohybovat pod 20 μ l, při tomto objemu má dané léčivo stejný efekt jako při doručení objemu většího, avšak s výrazně nižším výskytem nežádoucích účinků. Pro některé pacienty, především ty starší, může ale tento objem být při aplikaci špatně

detektovatelný a vyústit tak v aplikaci většího počtu dávek. Průměrný objem kapky produkovaný komerčními očními kapkami je cca 40 μ l. Menší objem výsledné kapky při snížení dispenzačního úhlu platí v případě, že se kapátko nesmáčí. Při smáčení kapátka má snížení dispenzačního úhlu efekt opačný a výsledná kapka je tak větší, což se stává u kapátek zaoblených, kdy kapka sklouzne po zaoblené špičce a poté odkápne.^{1,4,29,31,32}

Bylo prokázáno, že na výsledný objem kapky má vliv i rychlost aplikace. Čím je rychlost aplikace vyšší, tím je i objem kapky větší.²⁹ To ale v běžné aplikační praxi hraje menší roli, neboť pacient si kapku aplikuje jednu či maximálně dvě, kdy druhou kapku dle správných zásad aplikace aplikuje po uplynutí několika minut.

Na závěr je potřebné zmínit, že předchozími studiemi bylo prokázáno, že zbytkový objem přípravku v lahvičce nemá na výsledný objem kapky vliv.^{1,29}

7 Experimentální část

7.1 Použité suroviny

Registrovaná vakcína v práci označovaná jako BlueV a NobilisV (dle použitých diluentů)

Diluent v plastových lahvičkách 30 ml:

Nobilis® (Elanco, Španělsko) – označován jako Nobilis

AviPro® Blue (Elanco, US) – označován jako Blue

7.2 Použité přístroje

Analytické váhy ABJ 120-4M (d = 0,1 mg, Kern, Německo)

Prototyp přístroje na automatické kapání (Elanco, Španělsko)

Hustoměr DMA 4100 M (Anton Paar, Rakousko)

Viskozimetr Ubbelohde (Sklárny Kavalier, Česká republika)

Tensiometr K100 (Krüs, Německo)

7.3 Použité metody

Experiment byl rozdělený na dvě části: manuální kapání konvenčním dávkovacím systémem (lahvička, kapátko) a kapání pomocí prototypu dávkovacího přístroje. Pro obě části jsem použila stejný přípravek, jehož základem byla lyofilizovaná vakcína. Pro rekonstituci vakcíny jsem používala dvě vehikula (diluenty), dále označované jako Nobilis nebo Blue o objemu 30 ml. Tekutinu jsem vlila do lahvičky s lyofilizovanou vakcínou a po její homogenizaci jsem suspenzi buněk přelila zpět do plastové lahvičky, která zároveň sloužila jako dispenzační zařízení. Lahvičku jsem uzavřela kapátkem specifickým pro daný diluent, tedy Blue nebo Nobilis. Vakcíny rekonstituované s příslušným diluentem jsou dále v práci označovány jako BlueV a NobilisV. V případě testování prototypového přístroje jsem lahvičku s přípravkem umístila do přístroje.

Hodnotila jsem vliv dispenzačního úhlu a objemu přípravku na hmotnost kapky. Manuální kapání jsem prováděla při dvou úhlech, 90° nebo 45°, s objemy přípravku

30 ml, 15 ml a 7.5 ml. Hodnotila jsem také produktivitu jako čas potřebný pro nakapání 10 kapek.

Při hodnocení velikosti kapky u prototypu je nezbytná poloha lahvičky dnem vzhůru, proto výsledný dispenzační úhel odpovídá 45° . Ostatní sledované faktory byly stejné jako u manuálního kapání.

7.3.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti přípravku

Měřila jsem celkem čtyři vzorky – Blue, Nobilis, BlueV a NobilisV. Před měřením byly z rekonstituované vakcíny odstraněny buňky přefiltrováním přes bakteriální filtr o velikosti pórů $0,45\ \mu\text{m}$.

Měření hustoty

Hustotu ρ (g/ml) jsem měřila pomocí hustoměru při 20°C a 25°C . Po zapnutí se přístroj musel nechat stabilizovat minimálně 15 minut. Poté jsem zkontrolovala správnost nastavení přístroje vzduch/voda pomocí ultra čisté vody a porovnáním naměřené hodnoty s hodnotou tabulkovou.

Stříkačku s příslušným vzorkem jsem zasunula do bočního vstupu hustoměru a promyla s ním měřící celu, kterou jsem následně naplnila bez vzduchových bublin. Měření jsem opakovala celkem pětkrát pro každý roztok a obě teploty a vypočítala průměrnou hodnotu.

Měření viskozity

K měření viskozity jsem použila kapilární viskozimetr. Naplnila jsem viskozimetr příslušným vzorkem, aby hladina sahala v dolní nádobce mezi vyznačené rysky a vzorek jsem nechala temperovat na teplotu 20°C přibližně 30 minut. Pomocí připevněné hadičky jsem nasála vzorek do horní nádoby nad vyznačenou rysku a poté nechala vzorek protékat kapilárou a měřila jsem čas, za který jeho hladina klesne od vyznačené horní rysky po vyznačenou spodní rysku. Tento proces jsem opakovala pro každý ze čtyř vzorků 5krát. Průměrnou hodnotu času jsem použila pro výpočet kinematické viskozity (mm^2/s).

Kinematická viskozita (ν) byla určena podle rovnice (1):

$$\nu = K \times t - \left(\frac{2,8}{t}\right) [\text{m}^2/\text{s}] \quad (1)$$

Konstanta viskozimetru $K = 0.010192 \text{ mm}^2/\text{s}$; čas t (s).

Z kinematické viskozity jsem vypočítala viskozitu dynamickou (η) ($\text{Pa}\cdot\text{s}$):

$$\eta = \nu \times \rho \quad (2)$$

Kinematická viskozita (ν), hustota (ρ).

Měření povrchového napětí

Povrchové napětí jsem měřila pomocí tensiometru Krüs dvěma metodami, destičkovou a kroužkovou, za laboratorní teploty $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Do skleněné vysušené nádoby přístroje jsem nalila 60 ml měřeného vzorku a měřila jsem sílu potřebnou k odtržení destičky nebo kroužku od vodní hladiny. Opakovala jsem vždy třikrát pro každý vzorek. Mezi každým měřením jsem destičku nebo kroužek opatrně umyla v ultra čisté vodě, vyžihala je nad kahanem a následně umístila do přístroje.

Vypočítala jsem průměrné hodnoty povrchového napětí v mN/m pro jednotlivé vzorky a jejich směrodatné odchylky.

7.3.2 Hodnocení hmotnosti kapek

Manuální kapání

Hodnotila jsem vakcínu rekonstituovanou vehikulem Blue nebo Nobilis, tedy vakcíny v této práci označované jako BlueV a NobilisV. Na analytické váhy jsem umístila prázdnou kádinku, vytárovala ji a při poloze svisle (dispenzační úhel 90°) jsem postupně odkapávala jednotlivé kapky vakcíny standardním stiskem lahvičky (standardní dispenzační režim, SDR). Hmotnost každé kapky jsem zapsala. Celkem byla zaznamenána hmotnost deseti jednotlivých kapek v jedné sérii.

Sérií bylo celkem 5 pro standardní dispenzační režim, vždy po 2 sériích jsem doplnila objem přípravku (30 ml, 15 ml anebo 7.5 ml) zpět do lahvičky a obměnila kapátko. Stejně jsem postupovala při úhlu kapání 45°.

Vypočítala jsem průměr, směrodatnou odchylku (SD) a celkovou průměrnou hmotnost jedné kapky ($n = 50$).

Pro hodnocení produktivity jsem měřila čas, za který se nakapalo deset kapek rychle za sebou při dispenzačním úhlu 90° i 45° a při objemech náplně lékovky 30 ml, 15 ml a 7.5 ml. Kapala jsem vždy po 5 sériích s průběžným doplňováním, přesně tak, jak je uvedeno výše pro SDR. Z celkové hmotnosti 10 kapek jsem vypočítala průměrnou hmotnost jedné kapky v sérii, SD a celkovou průměrnou hmotnost jedné kapky ($n = 5$).

Kapání dávkovacím přístrojem

Na začátku před dispenzací přípravku bylo nutné provést kalibraci podle pokynů výrobce. Odvzdušnění přístroje probíhalo po každé manipulaci s lahvičkou (doplnění náplně či výměna vakcíny).

Lahvičku s přípravkem jsem připevnila k prototypu dávkovacího přístroje. Na analytické váhy jsem umístila prázdnou kádinku, vytárovala jsem ji a v poloze lahvičky dnem vzhůru jsem stiskem tlačítka produkovala jednotlivé kapky. Poloha dávkovací kapiláry odpovídala při takto umístěné lahvičce úhlu kapání 45°. Po dvou sériích jsem doplňovala vykapovaný objem zpět do lahvičky a přístroj pokaždé odvzdušnila. Celkem jsem kapala 5 sérií po 10 kapkách při objemech náplně v lékovce 30 ml, 15 ml a 7.5 ml. Vypočítala jsem průměr, SD a celkovou průměrnou hmotnost kapky ($n = 50$).

Pro hodnocení produktivity jsem měřila čas nezbytný pro dispenzaci deseti kapek rychle za sebou (rychlý režim kapání, RRK). Ze série pěti měření jsem zaznamenala čas, vypočítala průměr, SD a celkovou průměrnou hmotnost ($n = 5$).

7.3.3 Zpracování dat

Významnost vlivu hodnocených faktorů na hmotnost kapky jsem hodnotila pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) na hladině $\alpha = 0,05$.

8 Výsledky a diskuze

Velikost oční kapky ovlivňuje celá řada faktorů, které můžeme rozdělit do dvou hlavních skupin, a to na faktory technologické a faktory dispenzační.⁴ Technologické faktory, jako složení přípravku nebo vlastnosti dávkovacího zařízení, jsou zajištěny výrobcem, tudíž v experimentu neovlivnitelné. Dispenzační faktory, tedy technika kapání, která zahrnuje dispenzační úhel a dispenzační rychlost, mají na velikost kapky přímý vliv.

Hlavní cíl této rigorózní práce bylo sledovat vliv faktorů: dispenzačního úhlu 90° a 45°, zbytkového objemu náplně 30 ml, 15 ml a 7.5 ml a rychlosti kapání na hmotnost kapek při manuálním kapání z konvenčního dispenzačního systému (lahvička a kapátko) a porovnat s hmotností kapek získaných z prototypového dávkovacího přístroje.

Použila jsem živou vakcínu obsahující bakterii *Mycoplasma gallisepticum*, která byla v lyofilizované formě. K její rekonstituci jsem používala dvě vehikula v lahvičkách o objemu 30 ml, Blue a Nobilis. Lahvičku jsem pro zachycení variability dávkovacího systému měnila společně s kapátkem každé dvě série, tj. po každých dvaceti kapkách. U prototypu jsem hodnotila pouze vliv objemu. Z důvodu zaručení správné funkce prototypu je vyžadována poloha lahvičky dnem vzhůru (90°), při které se kapka tvořila z kapací kapiláry při úhlu cca 45°.

8.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti přípravku

Výsledky měření jsou shrnuté v tab. 1 a to vždy pro samotné vehikulum a následně vakcínu rekonstituovanou příslušným vehikulem. Před měřením fyzikálně-chemických vlastností byly vzorky rekonstituované vakcíny přefiltrovány.

Hustota vehikula byla téměř srovnatelná s vodou, po přidání vakcíny se mírně zvýšila, a to pravděpodobně díky přítomnosti pomocných látek ve vakcíně. Hustota obou přípravků po rekonstituci byla srovnatelná.

Čas pro výpočet kinematické viskozity byl měřen Ubbelohdeho viskozimetrem při 20°C. Kinematická viskozita byla poté převedena na dynamickou viskozitu. Samotné diluenty byly méně viskózní než zředěné vakcíny, což svědčí o přítomnosti

pomocných látek pro stabilizaci lyofilizačního koláče. Nejnižší viskozita byla zjištěna pro vehikulum Blue. Je známo, že ideální viskozita pro potřebnou dobu kontaktu oční kapky s okem je mezi 15–30 mPa·s.^{4, 19} Při nižší viskozitě kapka rychleji odteče z oka, naopak při vyšší viskozitě mohou oční kapky zvyšovat odpor pro pohyb víček. Pokud je viskozita menší než 15 mPa·s, nemá na výslednou hmotnost kapky vliv.²⁰

Povrchové napětí bylo nejvyšší pro vehikulum Blue, po smísení s vakcínou vykazoval přípravek BlueV nižší hodnotu. Důvodem může být použití povrchově aktivní látky pro stabilizaci vakcíny. Naopak nižší povrchové napětí bylo zjištěno pro vehikulum Nobilis, pro přípravek NobilisV byly hodnoty mírně vyšší. Hodnota povrchového napětí je velice důležitá vlastnost očních kapek. Je klíčové, aby přípravek neporušoval přilnavost mucinové vrstvy slz k oční rohovce. Jako nejnižší akceptovatelná hodnota povrchového napětí pro oční kapky je uváděna hodnota 30 mN/m.³² Navíc povrchové napětí přímo ovlivňuje hmotnost kapky (Tateho zákon).

Tab. 1: Fyzikálně-chemické vlastnosti zkoušených přípravků (v závorce směrodatná odchylka).

		Blue	BlueV	Nobilis	NobilisV
Hustota (g/ml)	20°C	1,005 (0)	1,033 (0)	1,013 (0)	1,033 (0)
	25°C	1,003 (0)	1,032 (0)	1,012 (0)	1,032 (0)
Viskozita	ν (mm²/s)	1,04 (0,02)	1,36 (0)	1,26 (0)	1,38 (0)
	η (mPa·s)	1,04 (0,02)	1,40 (0)	1,28 (0)	1,42 (0)
Povrchové napětí (mN/m)	Kroužek	62,0 (0,15)	47,7 (0,10)	40,0 (1,09)	46,7 (0,01)
	Destička	65,5 (0,37)	51,6 (0,05)	38,1 (1,50)	49,4 (0,29)

8.2 Hodnocení hmotnosti kapky při manuálním kapání

Manuální kapání probíhalo s lyofilizovanou vakcínou rekonstituovanou dvěma diluenty – Blue a Nobilis. V experimentu jsem použila dva režimy kapání pro ověření vlivu rychlosti na hmotnost kapky, a to standardní dispenzační režim (SDR) s kontrolovanou tvorbou kapky, a režim rychlého kapání (RRK), kdy současně byla sledována „produktivita“, jako čas potřebný pro nakapání 10 kapek. Součástí

hodnocení při obou režimech bylo ověření vlivu dispenzačního úhlu (90° a 45°) a ověření vlivu zbytkového objemu přípravku (30 ml, 15 ml, 7.5 ml) na výslednou hmotnost kapky.

8.2.1 Standardní dispenzační režim

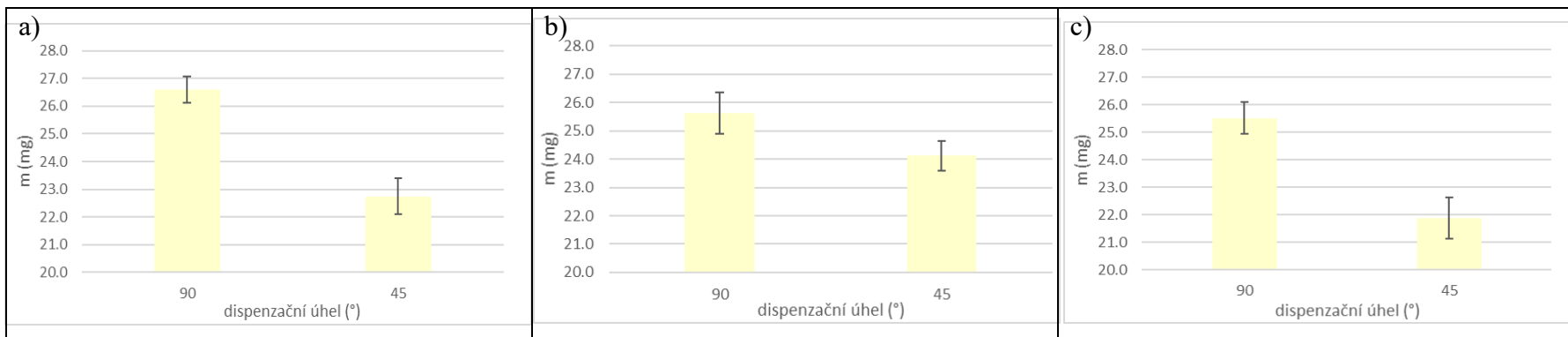
Vliv dispenzačního úhlu a objemu na hmotnost kapky při standardním dispenzačním režimu (SDR) shrnují tab. 2 a 8 a obr. 7–10 a jsou uvedeny pro obě testované vakcíny, tj. BlueV a NobilisV. Výsledky analýzy rozptylu ANOVA jsou uvedeny v tab. 3–7 a 9–13. Výsledky měření produktivity, tj. vliv dispenzačního úhlu a objemu na hmotnost kapky při režimu rychlého kapání jsou v tab. 15–18 a 23–25 a na obr. 7–8 a 14–15 opět pro obě testované vakcíny BlueV a NobilisV. Výsledky analýzy rozptylu ANOVA jsou uvedeny v tab. 18–22 a 26–30.

Byly hodnoceny série 5 opakování pokusu, přičemž v každé sérii byla zaznamenána hmotnost jednotlivých 10 kapek m (mg) (n=10) a vyjádřen jejich průměr (n=50) a směrodatná odchylka.

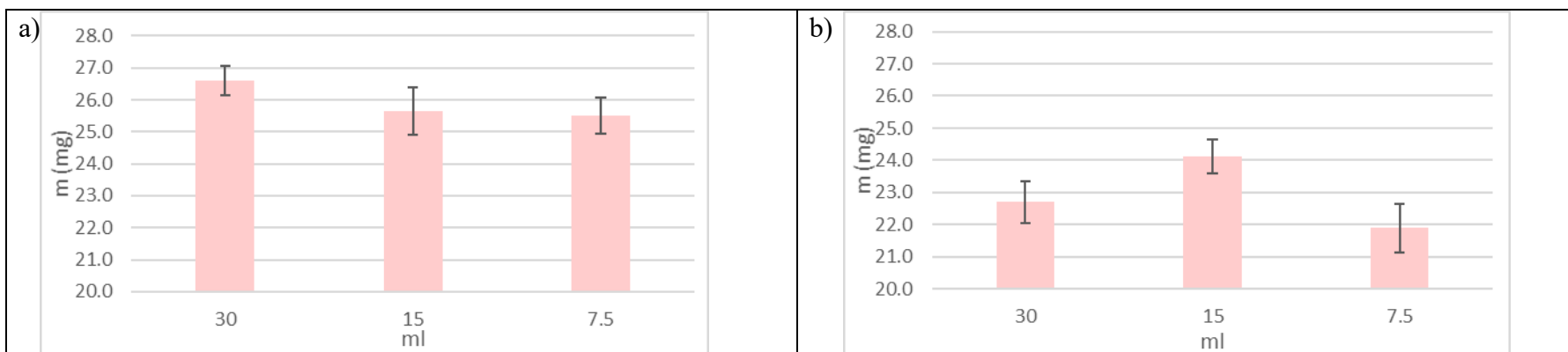
Vliv diluentu Blue

Tab. 2: Vliv dispenzačního úhlu a zbytkového objemu na hmotnost kapky (mg) vakcíny BlueV při standardním dispenzačním režimu.

Hmotnost kapky (mg)	30 ml		15 ml		7,5 ml	
	90°	45°	90°	45°	90°	45°
1	26.5	23.8	25.4	23.9	25.4	22.7
2	26.7	22.6	25.7	24.3	25.4	21.4
3	26.7	22.9	26.0	25.0	25.6	21.9
4	26.7	22.0	25.8	23.5	25.3	21.4
5	26.4	22.4	25.2	24.0	25.9	21.9
Průměr	26.6	22.7	25.6	24.1	25.3	21.9
SD	0.15	0.70	0.32	0.56	0.23	0.54



Obr. 7: Vliv dispenzačního úhlu na hmotnost kapky (mg) vakcíny BlueV při objemu a) 30 ml, b) 15 ml, c) 7.5 ml při standardním dispenzačním režimu.



Obr. 8: Vliv objemu na hmotnost kapky (mg) vakcíny BlueV při dispenzačním úhlu a) 90°, b) 45° při standardním dispenzačním režimu.

Vliv dispenzačního úhlu a zbytkového objemu na hmotnost kapky (mg) při použití vakcíny BlueV a standardním dispenzačním režimu shrnuje tab. 2. Na obr. 7 a – c můžeme vidět, že hmotnost kapky je menší při snížení dispenzačního úhlu z 90° (~25,8 mg) na 45° (~22,9 mg). Na základě teoretických poznatků je hmotnost kapky přímo úměrná povrchovému napětí přípravku a efektivnímu obvodu kapátka. Z důvodu zmenšení efektivního obvodu kapátka vlivem snížení úhlu z 90° na 45° dochází ke zmenšení hmotnosti kapky (obr. 7 a – c), což je v souladu s teorií.^{4, 29, 32} Hmotnosti kapek vakcíny BlueV se pohybovaly v rozmezí od 21,9 mg do 26,6 mg. Lze pozorovat na obr. 8, že při 90° hmotnost kapky klesá při zmenšení objemu náplně od 30 ml (26,6 mg) přes 15 ml (25,6 mg) až po 7,5 ml (25,3 mg). To samé ale neplatí pro úhel 45°, kde je průměrná hmotnost nejvyšší pro 15 ml (24,1 mg). Nejvyšší variabilita hmotností (SD) byla při úhlu 45° a plné lahvičce, nejmenší pak při úhlu 90° a plné lahvičce.

Tab. 3: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při zbytkovém objemu 30 ml a při standardním dispenzačním režimu, vakcína BlueV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv úhlu	371.718	1	371.718	675.86	< 0,01	3.94
Reziduum	53.899	98	0.55			
Celkem	425.618	99				

Tab. 4: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při zbytkovém objemu 15 ml a při standardním dispenzačním režimu, vakcína BlueV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv úhlu	57.003	1	57.003	99.26	< 0,01	3.94
Reziduum	56.279	98	0.57			
Celkem	113.281	99				

Tab. 5: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při zbytkovém objemu 7.5 ml a při standardním dispenzačním režimu, vakcína BlueV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv úhlu	332.333	1	332.333	570.89	< 0,01	3.94
Reziduum	57.049	98	0.58			
Celkem	389.382	99				

Tab. 6: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu při úhlu dispenzace 90° při standardním dispenzačním režimu, vakcína BlueV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	35.064	2	17.532	43.099	< 0.01	3.06
Reziduum	59.797	147	0.41			
Celkem	94.862	149				

Tab. 7: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu při úhlu dispenzace 45° při standardním dispenzačním režimu, vakcína BlueV (ANOVA).

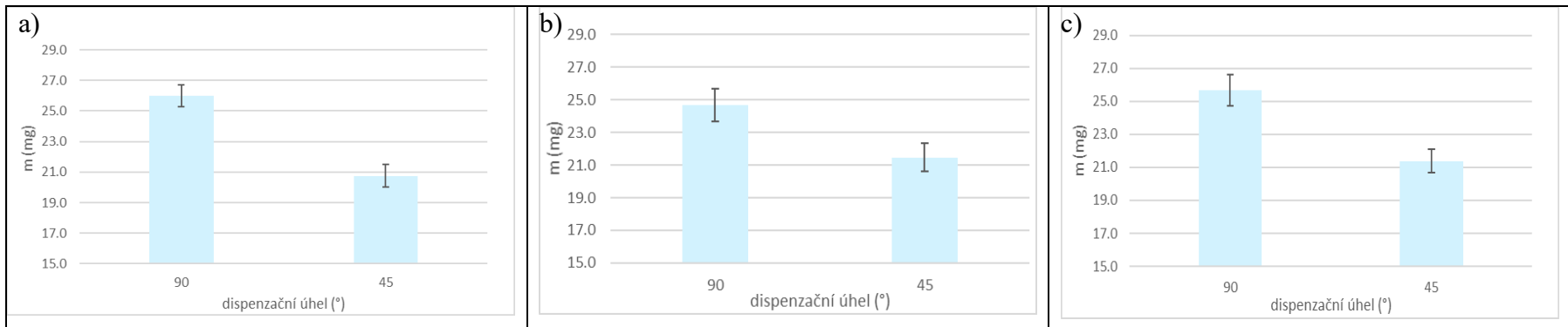
Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	129.909	2	64.954	88.879	< 0.01	3.06
Reziduum	107.430	147	0.73			
Celkem	237.338	149				

Z jednofaktorové analýzy dat (ANOVA) v tab. 3 - 7 vyplývá významnost vlivu úhlu i objemu na hmotnost kapky ($p < 0.01$). Vliv zbytkového objemu na hmotnost kapky byl prokázán jako významný při obou dispenzačních úhlech.

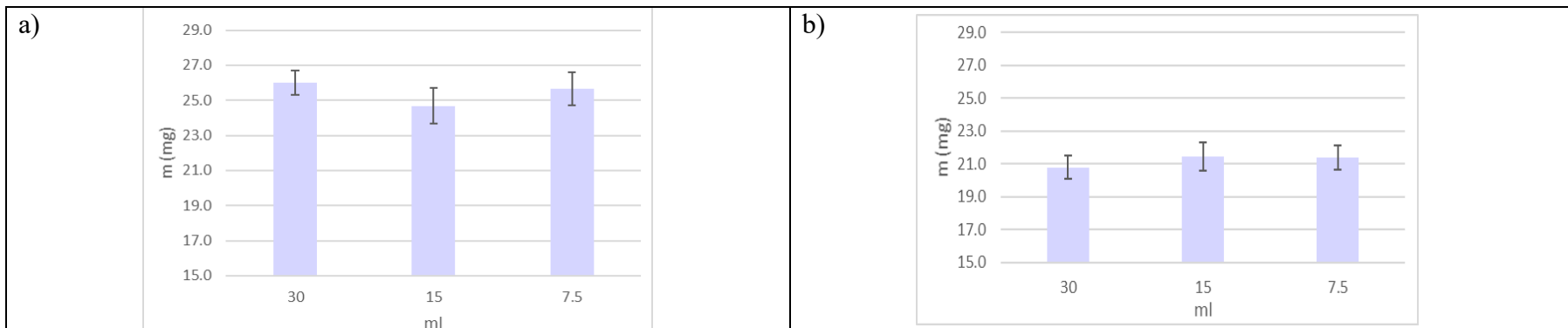
Vliv diluentu Nobilis

Tab. 8: Vliv dispenzačního úhlu a zbytkového objemu na hmotnost kapky (mg) vakcíny NobilisV při standardním dispenzačním režimu.

Hmotnost kapky (mg)	30 ml		15 ml		7,5 ml	
	90°	45°	90°	45°	90°	45°
1	24.3	20.5	22.5	22.6	24.9	20.3
2	25.2	22.1	23.5	19.2	24.9	22.8
3	27.1	22.1	25.4	21.7	26.7	22.8
4	27.5	19.2	25.8	21.7	26.9	20.6
5	26.0	19.9	26.2	22.1	24.9	20.4
Průměr	26.0	20.8	24.7	21.5	25.7	21.4
SD	1.34	1.28	1.60	1.30	1.04	1.29



Obr. 9: Vliv dispenzačního úhlu na hmotnost kapky (mg) vakcíny NobilisV při objemu a) 30 ml, b) 15 ml, c) 7.5 ml při standardním dispenzačním režimu.



Obr. 10: Vliv objemu na hmotnost kapky (mg) vakcíny NobilisV při dispenzačním úhlu a) 90°, b) 45° při standardním dispenzačním režimu.

Tab. 8 shrnuje hmotnosti kapky v jednotlivých sériích pro vakcínu NobilisV a jejich průměry spolu se směrodatnými odchylkami. Obrázek 9 a – c znázorňuje vliv dispenzačního úhlu a obrázek 10 a – b vliv zbytkového objemu na hmotnost kapky vakcíny. Na první pohled je patrné, že velikost kapky NobilisV byla vždy větší při dispenzačním úhlu 90° (~25,5 mg) oproti úhlu 45° (~21,2 mg) stejně jako u BlueV. Z naměřených dat není na první pohled jasný vliv zbytkového objemu na hmotnost kapky. Hodnoty hmotnosti kapky byly vlivem změny objemu přípravku při jednotlivých úhlech značně fluktuující. Rozmezí hmotností kapek NobilisV byly od 20,8 mg do 26,0 mg. Vyšší variabilita hmotností byla pozorována při úhlu 90° a objemu 15 ml, nejmenší hmotnost kapky pak byla 20,8 mg, a to při úhlu 45° a plné lahvičce (30 ml).

Hmotnost kapky se při zmenšujícím úhlu zmenšovala, vliv objemu měl za následek kolísající hodnoty hmotností. Ze statistického hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu metodou ANOVA je zřejmé, že dispenzační úhel měl významný vliv ($p < 0,01$) na hmotnost kapky při všech objemech stejně jako zbytkový objem, ten ale jen při úhlu 90°. Při úhlu 45° byl vliv objemu na hmotnost kapky nevýznamný.

Tab. 9: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při zbytkovém objemu 30 ml a při standardním dispenzačním režimu, vakcína NobilisV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv úhlu	688.538	1	688.538	358.37	< 0,01	3.94
Reziduum	188.29	98	1.92			
Celkem	876.828	99				

Tab. 10: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při zbytkovém objemu 15 ml a při standardním dispenzačním režimu, vakcína NobilisV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv úhlu	258.566	1	258.566	100.297	< 0,01	3.94
Reziduum	252.645	98	2.58			
Celkem	511.212	99				

Tab. 11: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při zbytkovém objemu 7.5 ml a při standardním dispenzačním režimu, vakcína NobilisV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv úhlu	373.649	1	373.649	160.235	< 0,01	3.94
Reziduum	228.525	98	2.33			
Celkem	602,174	99				

Tab. 12: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu při úhlu dispenzace 90° při standardním dispenzačním režimu, vakcína NobilisV (ANOVA).

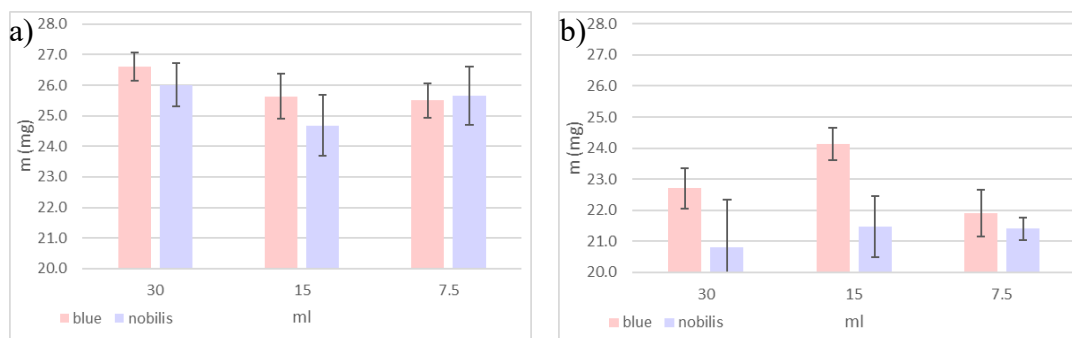
Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	43.855	2	21.927	8.456	< 0.01	3.058
Reziduum	381.173	147	2.59			
Celkem	425.028	149				

Tab. 13: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu při úhlu dispenzace 45° při standardním dispenzačním režimu, vakcína NobilisV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	15.140	2	7.570	3.860	0.02	3.058
Reziduum	288.287	147	1.96			
Celkem	303.427	149				

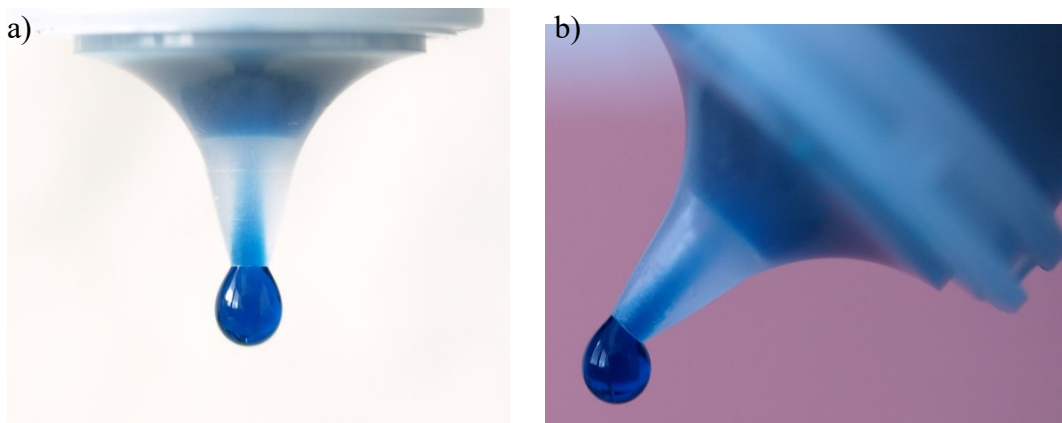
Srovnání hmotnosti kapky vakcín BlueV vs. NobilisV při standardním dispenzačním režimu

Při standardním dispenzačním režimu se suspenze BlueV a NobilisV chovaly velmi podobně, tj. se snižujícím se dispenzačním úhlem se hmotnosti kapek zmenšovaly, (viditelné na obr. 11 a - b.)

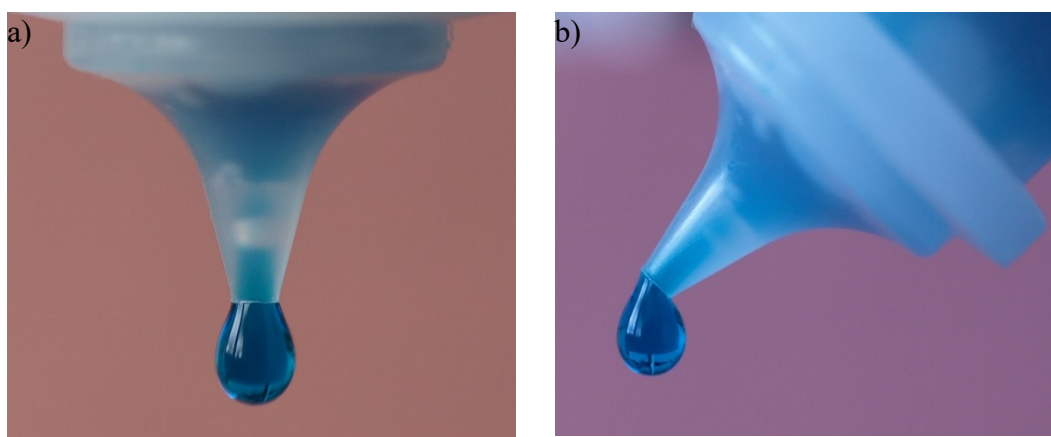


Obr. 11: Porovnání vlivu zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) pro vakcíny BlueV vs NobilisV při standardním dispenzačním režimu při úhlu a) 90° a b) 45°.

Na obrázku 11a jsou při 90° vidět vyšší hodnoty průměrných hmotností pro BlueV kromě zbytkového objemu 7.5 ml, kdy průměrná hmotnost v tomto případě byla vyšší pro vakcínu NobilisV. Při úhlu 45° byly hmotnosti vakcíny BlueV vždy větší. Pro vakcínu NobilisV byla zaznamenána vyšší směrodatná odchylka při obou úhlech než pro vakcínu BlueV. ANOVA potvrdila významnost vlivu dispenzačního úhlu na hmotnost kapky u obou přípravků.



Obr. 12 – Kapátko použité pro dispenzaci vakcíny s BlueV při a) 90° a b) 45°



Obr. 13 – Kapátko použité pro dispenzaci vakcíny s NobilisV při a) 90° a b) 45°

Porovnání kapátek použitých při experimentu při úhlech 90° a 45° pro BlueV (obr. 12) a NobilisV (obr. 13) umožňují obrázky 12 a 13. Barva obou suspenzí je modrá, mírně tmavší je BlueV. Oba přípravky měly při dispenzaci podobné chování díky podobným fyzikálně-chemickým vlastnostem.

Díky plochému tvaru zakončení kapací kapiláry se při experimentu kapátko nesmácelo, což byla výhoda oproti kulatým tvarům zakončení. Velikost kapky pak záleží na rozměru kapací kapiláry. Protože kapka se lineárně zvětšuje s vnějším průměrem odkapávacího obvodu, u plochých kapátek je tento obvod jasně definován hranou zakončení.³³ Proto plochá kapátka nemají tendenci se smáčet.

Teoretickou hmotnost kapky (M) lze vypočítat, pokud je znám poloměr kapiláry kapátka (r) a povrchové napětí kapaliny (σ)³¹:

$$M = \frac{2\pi r \cdot \sigma}{g} \quad (3)$$

Poloměr kapiláry (r)	$0,92 \times 10^{-3} \text{ m}$
Povrchové napětí (σ)	BlueV = 49,65 mN/m NobilisV = 48,05 mN/m
Gravitační zrychlení (g)	$9,80665 \text{ m/s}^2$

Po dosazení do rovnice (3) jsem vypočítala teoretickou hmotnost kapky 29,25 mg (BlueV) a 28,31 mg (NobilisV). S využitím naměřené hodnoty pro hustotu přípravku (1,032 g/ml) vyšlo, že objem výsledných kapek je 28,34 μl (BlueV) a 27,43 μl (NobilisV). Teoretické hmotnosti kapky jsou vyšší než hmotnosti naměřené experimentálně. Teoretické hmotnosti jsou díky stejnému poloměru kapiláry a velmi podobným hodnotám povrchového napětí velice podobné. Že je teoretická hmotnost kapky vyšší než experimentální zkoumali Harkins a Brown. Dle jejich experimentu dospěli k závěru, že je Tateho zákon nekonzistentní, protože pouze 60–70 % kapky se oddělí od kapátka. Zavedli proto empiricky odvozený korelační Harkins-Brown faktor F_{HB} .³¹

8.2.2 Režim rychlého kapání

Vliv diluentu Blue

Režim rychlého kapání (RRK) a hodnocení produktivity zkoumal mimo vlivu úhlu a objemu náplně lahvičky také čas potřebný na dispenzaci deseti kapek. Data zaznamenaná v tabulkách 15 - 17 uvádějí průměrné hodnoty hmotnosti kapky vypočítané z deseti odkápnutých kapek, času, který byl potřeba na nakapání deseti kapek a směrodatné odchylky. Hmotnost kapek a čas jsem měřila při úhlu 90° a 45° se třemi objemy (30 ml, 15 ml, 7.5 ml). Výsledky jsou zobrazeny na obrázcích 14 a – c (vliv dispenzačního úhlu), dále pak na obrázcích 15 a – b (vliv objemu).

Tab. 15: Vliv dispenzačního úhlu vakcíny BlueV na hmotnost kapky (mg) při režimu rychlého kapání a objemu 30 ml.

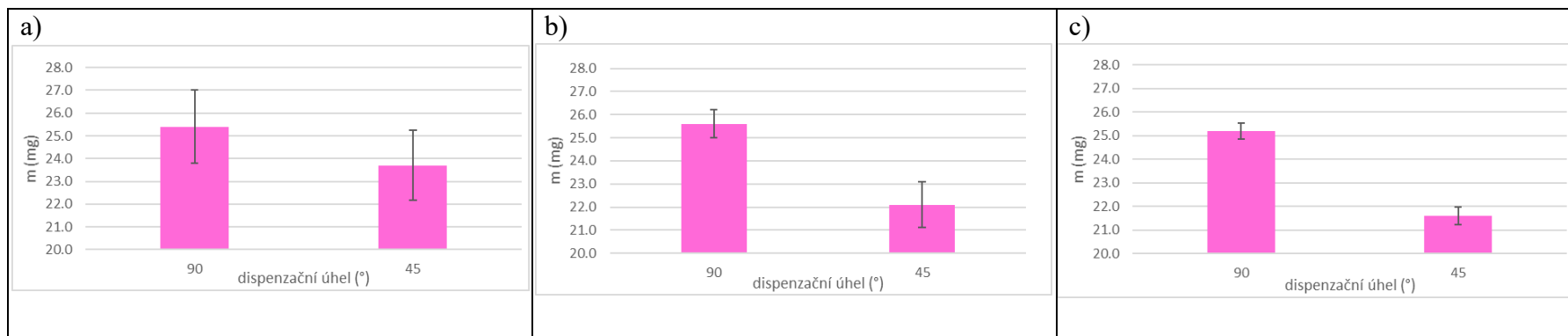
Kapání	90°	Čas (s)	45°	Čas (s)
1	25.0	17.5	22.9	16.7
2	25.1	16.4	25.4	18.1
3	27.7	13.4	22.2	15.9
4	25.9	13.6	22.8	15.7
5	23.2	16.3	25.4	15.2
průměr	25.4	15.4	23.7	16.3
SD	1.61	1.83	1.53	1.13

Tab. 16: Vliv dispenzačního úhlu vakcíny BlueV na hmotnost kapky (mg) při režimu rychlého kapání a objemu 15 ml.

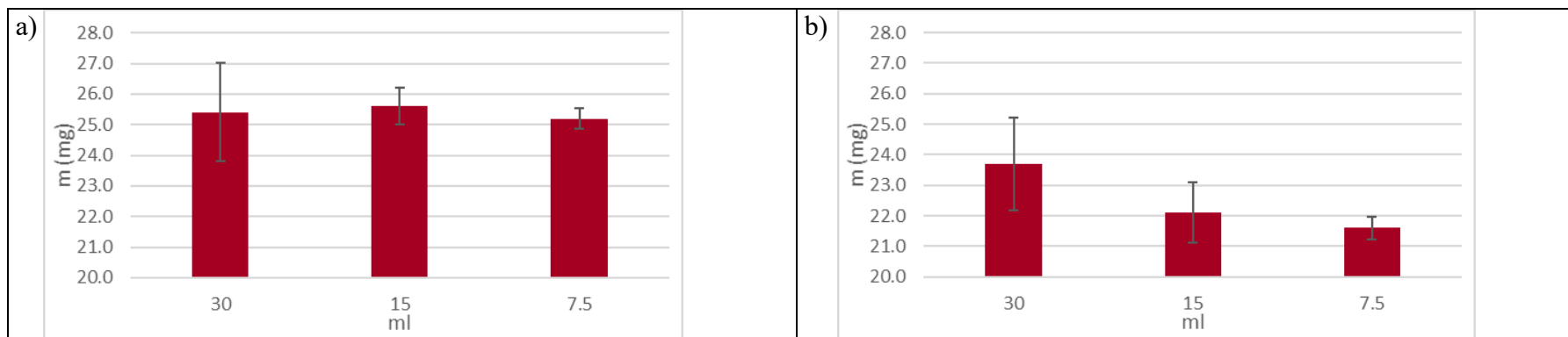
Kapání	90°	Čas (s)	45°	Čas (s)
1	25.1	17.9	21.3	16.0
2	26.2	19.2	21.9	15.9
3	25.2	17.4	23.8	15.4
4	25.2	17.2	21.8	14.3
5	26.3	14.8	21.9	14.8
průměr	25.6	17.3	22.1	15.3
SD	0.60	1.60	0.98	0.73

Tab. 17: Vliv dispenzačního úhlu vakcíny BlueV na hmotnost kapky (mg) při režimu rychlého kapání a objemu 7.5 ml.

Kapání	90°	Čas (s)	45°	Čas (s)
1	24.7	18.6	22.1	14.5
2	25.3	17.8	21.2	15.0
3	25.6	19.3	21.6	14.3
4	25.3	17.9	21.3	15.3
5	25.2	16.5	21.7	14.9
průměr	25.2	18.0	21.6	14.8
SD	0.33	1.04	0.37	0.40



Obr. 14: Vliv dispenzačního úhlu na hmotnost kapky (mg) pro vakcínu BlueV při objemu a) 30 ml, b) 15 ml, c) 7.5 ml při režimu rychlého kapání.



Obr. 15: Vliv objemu na hmotnost kapky (mg) pro vakcínu BlueV při dispenzačním úhlu a) 90°, b) 45° při režimu rychlého kapání.

Při dispenzačním úhlu 90° byly průměrné hmotnosti kapky téměř totožné (~25,4 mg) pro všechny tři objemy. Při hodnocení času potřebného pro nakapání deseti kapek je patrné, že s klesajícím objemem roste dispenzační čas. Nejkratší průměrný čas je tedy pro objem 30 ml (15,4 s). Nejdelší čas pro aplikaci byl třeba pro objem 7.5 ml (18,0 s) při 90° a to pravděpodobně z důvodu potřeby aplikace větší síly za účelem zvýšení tlaku v lahvičce.

Při dispenzačním úhlu 45° se spolu se zmenšujícím se objemem zmenšovala i průměrná hmotnost kapky. Na obrázku 14 a – c je na první pohled jasné, že snížení dispenzačního úhlu vedlo ke snížení hmotnosti kapky. Hmotnost dispenzované kapky byla nejvyšší pro objem 30 ml (~23.7 mg) a nejnižší pro objem 7.5 ml (~21,6 mg). Oproti svislému kapání zde byl časový trend opačný – se zmenšujícím se objemem se i zkracoval průměrný čas potřebný pro dispenzaci s nejvyšší hodnotou pro objem 30 ml (16,3 s) a nejnižší hodnotou pro 7.5 ml (14,8 s).

Celkově byla pozorována variabilita hmotnosti i času k nakapání 10 kapek při úhlu 90° a objemu 30 ml. Při úhlu 45° byla pozorována vyšší variabilita naměřených hmotností pro objem 30 ml, a to jak pro hmotnost kapek, tak i pro potřebný čas.

Statistické vyhodnocení metodou ANOVA ukazuje v tabulkách 18 - 22 nevýznamnost vlivu dispenzačního úhlu při plné lahvičce a také nevýznamnost vlivu objemu při úhlu 90°. Z důvodu použití průměrných hmotností namísto nativních dat (celková hmotnost deseti kapek vydělená deseti), významnost vlivu jednotlivých faktorů na hmotnost kapky nebyla statisticky hodnocena.

Tab. 18: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při objemu 30 ml a režimu rychlého kapání, vakcína BlueV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv úhlu	6.856	1	6.856	2.790	0.13	5.32
Reziduum	19.658	8	2.46			
Celkem	26.513	9				

Tab. 19: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při zbytkovém objemu 15 ml a režimu rychlého kapání, vakcína BlueV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv úhlu	29.756	1	29.756	44.900	< 0.01	5.32
Reziduum	5.302	8	0.66			
Celkem	35.058	9				

Tab. 20: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při zbytkovém objemu 7.5 ml a režimu rychlého kapání, BlueV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv úhlu	33.306	1	33.306	270.959	< 0.01	5.32
Reziduum	0.983	8	0.12			
Celkem	34.290	9				

Tab. 21: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu při dispenzačním úhlu 90° při režim rychlého kapání, vakcína BlueV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	0.312	2	0.156	0.153	0.86	3.86
Reziduum	12.200	12	1.02			
Celkem	12.512	14				

Tab. 22: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu při dispenzačním úhlu 45° a režimu rychlého kapání, BlueV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	12.393	2	6.197	5.411	0.02	3.86
Reziduum	13.743	12	1.15			
Celkem	26.136	14				

Vliv diluentu Nobilis

Vliv rychlého kapání byl stejně jako u BlueV hodnocen i pro NobilisV. V tabulkách 23 – 25 a na obrázcích 16 a -c a 17 a – b jsou zobrazeny výsledky pro NobilisV. V tabulkách je vždy pět průměrných hmotností kapky vypočítaných z deseti jednotlivých kapek spolu s časem, který byl potřeba na nakapání těchto kapek a směrodatné odchylky. Hodnoty v každé tabulce jsou pro úhel 90° a 45° a rozděleny do jednotlivých tabulek dle objemů 30 ml, 15 ml a 7.5 ml.

Tab. 23: Vliv dispenzačního úhlu na hmotnost kapky (mg) vakcíny NobilisV při režimu rychlého kapání a objemu 30 ml.

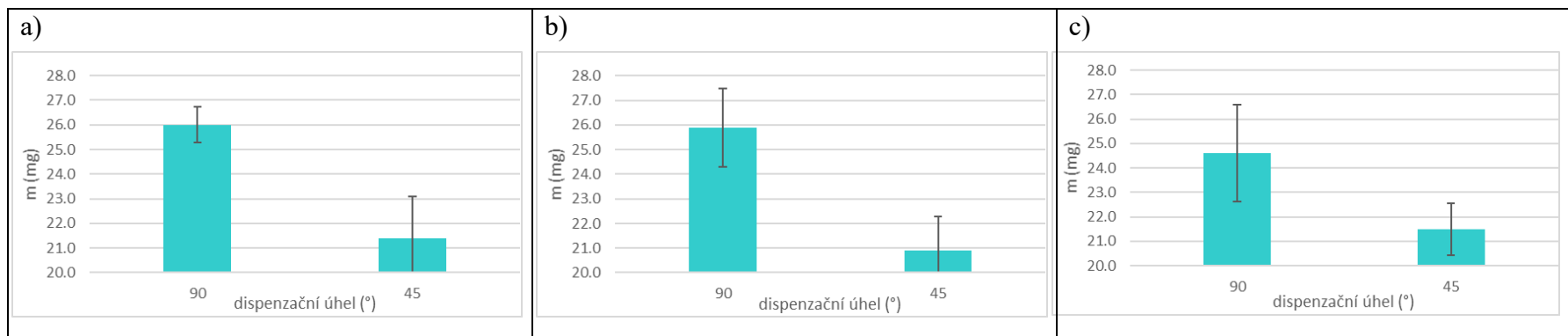
Kapání	90°	Čas (s)	45°	Čas (s)
1	26.4	15.0	19.4	20.0
2	25.9	17.7	21.2	14.2
3	25.5	16.2	24.1	16.8
4	25.5	14.7	21.0	16.5
5	23.8	22.3	21.1	16.9
průměr	25.4	17.2	21.4	16.9
SD	0.98	3.10	1.70	2.07

Tab. 24: Vliv dispenzačního úhlu na hmotnost kapky (mg) vakcíny NobilisV při režimu rychlého kapání a zbytkovém objemu 15 ml.

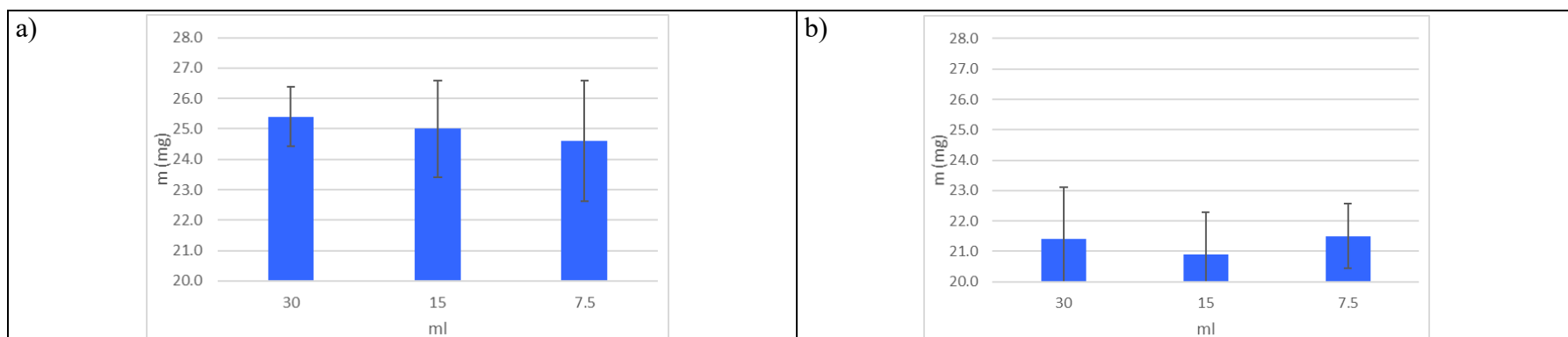
Kapání	90°	Čas (s)	45°	Čas (s)
1	26.7	14.0	20.2	16.8
2	25.7	14.8	21.1	19.5
3	23.4	20.5	20.8	13.6
4	23.2	21.5	19.2	19.9
5	26.1	15.9	23.0	18.1
průměr	25.0	17.3	20.9	17.6
SD	1.59	3.43	1.39	2.54

Tab. 25: Vliv dispenzačního úhlu na hmotnost kapky (mg) vakcíny NobilisV při režimu rychlého kapání a zbytkovém objemu 7.5 ml.

Kapání	90°	Čas (s)	45°	Čas (s)
1	25.2	13.2	21.5	13.6
2	23.0	16.0	20.0	14.0
3	22.1	18.4	22.8	12.2
4	26.7	11.2	22.2	13.2
5	26.1	12.4	21.1	12.8
průměr	24.6	14.2	21.5	13.2
SD	1.98	2.92	1.06	0.70



Obr. 16: Vliv dispenzačního úhlu na hmotnost kapky (mg) vakcíny NobilisV při objemu a) 30 ml, b) 15 ml, c) 7.5 ml při režimu rychlého kapání.



Obr. 17: Vliv objemu na hmotnost kapky (mg) vakcíny NobilisV při dispenzačním úhlu a) 90°, b) 45° při režimu rychlého kapání.

Hmotnost kapky se snižovala při snížení dispenzačního úhlu z 90° na 45°; při úhlu 90° se hmotnost kapky snižovala se snižujícím se objemem. Při plné lahvičce byla průměrná hmotnost největší (25,4 mg), dále pro zbytkový objem 15 ml (25,0 mg) a pro zbytkový objem 7,5 ml, který simuloval téměř prázdnou lahvičku byla průměrná hmotnost kapky nejmenší (24,6 mg). Variabilita měla opačný trend, tedy se zmenšujícím se objemem rostla.

Při úhlu 45° byla nejvyšší průměrná hmotnost kapky naměřena při zbytkovém objemu 7,5 ml (21,5 mg) a nejmenší průměrná hmotnost pro zbytkový objem 15 ml (20,9 mg). Variabilita hmotností byla pozorována pro objem 30 ml a časová variabilita pro zbytkový objem 15 ml. Nejdéle trvalo nakapání deseti kapek při zbytkovém objemu 15 ml (17,6 s), nejkratší čas byl pak pro objem 7,5 ml (13,2 s).

Celkově byl nejkratší průměrný čas pro nakapání deseti kapek při úhlu 45° a zbytkovém objemu 7,5 ml a při tomto samém úhlu nejdéle trvalo nakapat deset kapek se zbytkovým objemem 15 ml.

Tabulky 26 – 30 zobrazují statistická data pro hodnocení významnosti vlivu úhlu nebo objemu na hmotnost kapky. Z důvodu použití průměrných hmotností namísto nativních dat (celková hmotnost deseti kapek vydělená deseti), významnost vlivu jednotlivých faktorů na hmotnost kapky nebyla statisticky hodnocena.

Tab. 26: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při objemu 30 ml a režimu rychlého kapání, vakcína NobilisV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Mezi výběry	40.562	1	40.562	21.093	< 0.01	5.32
Reziduum	15.384	8	1.92			
Celkem	55.946	9				

Tab. 27: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při zbytkovém objemu 15 ml a režimu rychlého kapání, vakcína NobilisV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv úhlu	42.849	1	42.849	19.302	< 0.01	5.32
Reziduum	17.759	8	2.22			
Celkem	60.608	9				

Tab. 28: Výsledky hodnocení významnosti vlivu dispenzačního úhlu při zbytkovém objemu 7.5 ml a režimu rychlého kapání, vakcína NobilisV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv úhlu	24.838	1	24.838	9.862	0.014	5.32
Reziduum	20.148	8	2.52			
Celkem	60.608	9				

Tab. 29: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu při dispenzačním úhlu 90° a režimu rychlého kapání, vakcína NobilisV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	1.444	2	0.722	0.293	0.75	3.89
Reziduum	29.569	12	2.46			
Celkem	31.013	14				

Tab. 30: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu při dispenzačním úhlu 45° a režimu rychlého kapání, vakcína NobilisV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	1.035	2	0.517	0.262	0.77	3.89
Reziduum	23.722	12	1.98			
Celkem	24.757	14				

Srovnání hmotnosti kapky vakcín BlueV a NobilisV při režimu rychlého kapání

Hmotnost kapky u obou přípravků klesala se zmenšujícím se úhlem v souladu s teoretickými poznatky. Vakcína BlueV měla nejvyšší průměrnou hmotnost kapky 25,4 mg v kombinaci 90°/30 ml a nejnižší 21,6 mg při 45°/7,5 ml. Hmotnost kapky 90°/30 ml byla pro vakcínu NobilisV stejná s BlueV, ale nejmenší kapka byla 20,9 mg v kombinaci 45°/15 ml, tedy nižší oproti vakcíně BlueV.

Tabulka 31 přehledně shrnuje porovnávané parametry pro obě vakcíny. Z důvodu použití průměrných hmotností (celková hmotnost deseti kapek vydělená deseti), významnost vlivu jednotlivých faktorů na hmotnost kapky nebyla statisticky hodnocena.

Tab. 31: Přehled porovnání nejvyšších a nejnižších naměřených parametrů pro obě suspenze.

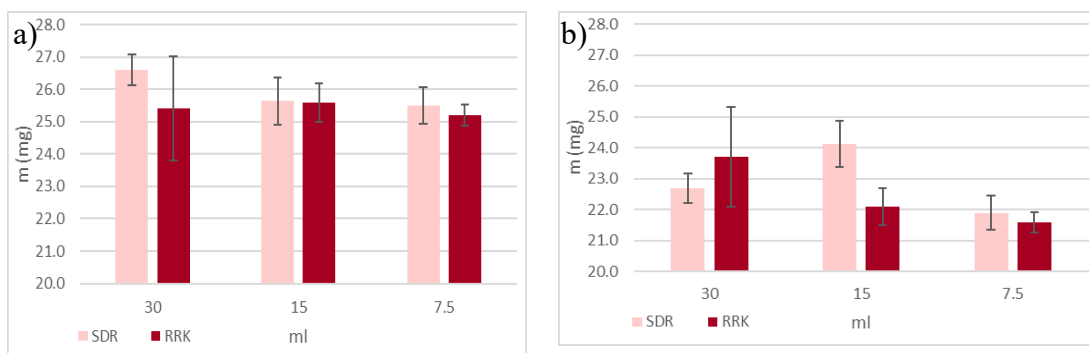
Parametr	Suspenze	Hodnota (úhel/objem)
Nejnižší hmotnost	NobilisV	20,9 mg (45°/15 ml)
Nejvyšší hmotnost	BlueV i NobilisV	25,4 mg (90°/30 ml)
Nejkratší čas	NobilisV	13,2 s (45°/7,5 ml)
Nejdelší čas	BlueV	18,0 s (90°/7,5 ml)
Nejnižší variabilita hmotností	BlueV	0,33 (90°/7,5 ml)
Nejnižší variabilita času	BlueV	0,40 (45°/7,5 ml)
Nejvyšší variabilita hmotností	NobilisV	1,98 (90°/15 ml)
Nejvyšší variabilita času	NobilisV	3,43 (90°/7,5 ml)

8.2.3 Porovnání vlivu režimu kapání na hmotnost kapky při manuálním kapání

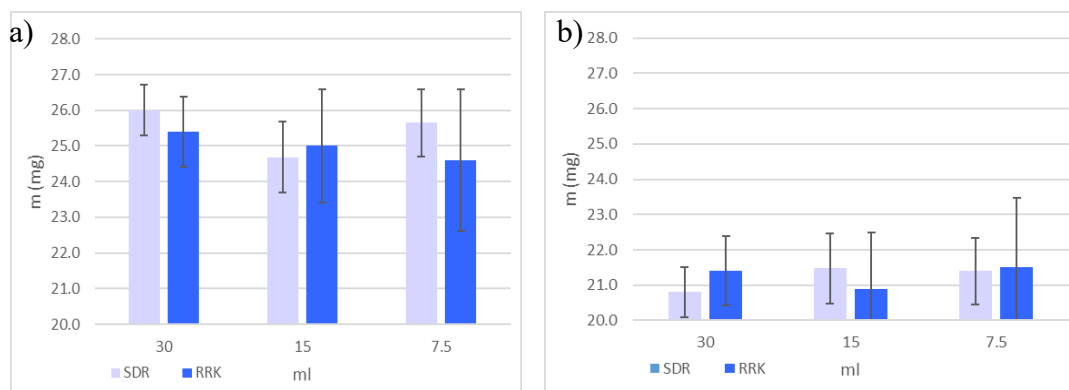
Na obrázku 18 a - b je porovnán vliv dispenzačního režimu a objemu náplně na hmotnost kapek (mg) pro BlueV při úhlu a) 90° a b) 45°. Kromě kombinace 45°/30 ml je překvapivě průměrná hmotnost kapky pro vakcínu BlueV vyšší při standardním dispenzačním režimu oproti režimu rychlého kapání. U vakcíny NobilisV byly výsledky střídavé podle kombinace faktorů. Vyšší hmotnost kapek převažovala při

standardním dispenzačním režimu při 90° (obr. 19 a), při 45° naopak převažovala vyšší hmotnost kapek při režimu rychlého kapání (obr. 19 b).

U obou režimů platilo, že se zmenšujícím se úhlem klesala i průměrná hmotnost kapky. Při režimu standardního kapání se průměrné hmotnosti pohybovaly od 20,8 mg (45°/30 ml, NobilisV) do 26,6 mg (90°/30 ml, BlueV). Při režimu rychlého kapání byly zaznamenány hmotnosti velmi podobné a to od 20,9 mg (45°/15 ml, vakcína NobilisV) do 25,4 mg (90°/30 ml, vakcíny BlueV i NobilisV).



Obr. 18: Porovnání vlivu zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) pro vakcínu BlueV při standardním dispenzačním režimu (SDR) a režimu rychlého kapání (RRK) při úhlu a) 90° a b) 45°.



Obr. 19: Porovnání vlivu zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) pro vakcínu NobilisV při standardním dispenzačním režimu (SDR) a režimu rychlého kapání (RRK) při úhlu a) 90° a b) 45°.

8.3 Hodnocení hmotnosti kapky při kapání prototypem

Automatické kapání bylo prováděno nově vyvinutým kapacím přístrojem (prototyp). Cílem bylo porovnání hmotnosti kapky a dávkové stejnoměrnosti s konvenčním manuálním kapáním. Pro tento automat bylo esenciální, aby byl před prvním použitím nakalibrován pomocí měřené tekutiny. Při jednotlivých výměnách lahvičky muselo dojít k odvodu vzduchu, aby byly odstraněny vzduchové bubliny, které by mohly mít vliv na výslednou hmotnost kapky.

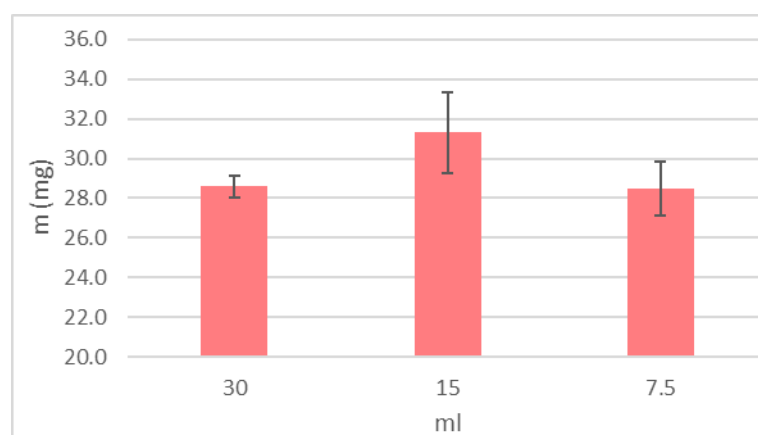
8.3.1 Standardní dispenzační režim

Zařízení neumožňuje vertikální polohu kapátka (v tomto případě zastrížené silikonové kapiláry), umožňuje kapání pouze v jedné poloze, odpovídající úhlu 45°. Produkce kapek probíhala stiskem tlačítka, kdy si zařízení samo saje i dávkuje přípravek. Měřila jsem hmotnost kapky při objemech 30 ml, 15 ml, 7,5 ml, kdy jsem vždy po dvou sériích přípravek doplnila do požadovaného objemu. V režimu standardního kapání jsem pro každý ze tří objemů kapala pět sérií po deseti kapkách ($n = 50$). Průměrné hodnoty jsou zaznamenány v tabulkách 32 a 35 a graficky znázorněné na obrázcích 20 a 21.

Vliv zbytkového objemu na hmotnost kapek BlueV

Tab. 32: Vliv zbytkového objemu náplně na hmotnost kapky (mg) vakcíny BlueV při standardním dispenzačním režimu za použití prototypového přístroje.

Kapání	30 ml	15 ml	7.5 ml
1	28.9	28.3	29.4
2	28.6	31.0	30.1
3	28.2	30.7	27.1
4	29.3	33.4	27.1
5	28.0	33.0	28.8
Průměr	28.6	31.3	28.5
SD	0.54	2.05	1.35



Obr. 20: Vliv zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) pro vakcínu BlueV za použití prototypového přístroje.

Nejvyšší průměrná hmotnost kapky byla zaznamenána při objemu 15 ml (31,3 mg), při objemu 30 ml a 7.5 ml byly průměrné hmotnosti kapky téměř totožné. Při objemu 15 ml byla nejvyšší variabilita dávky, zatímco nejmenší byla pozorována pro plnou lahvičku. Dle výsledků ANOVA v tabulce 33 měl objem přípravku významný vliv na výslednou hmotnost kapky.

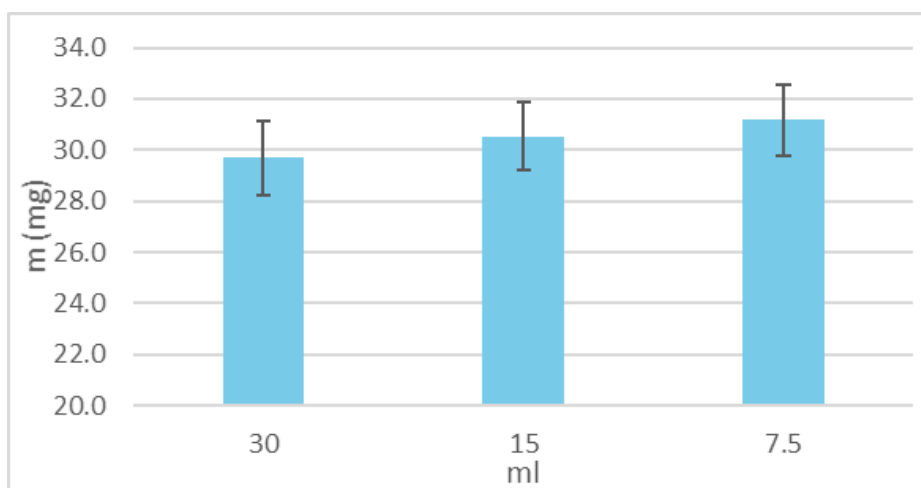
Tab. 33: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu za použití prototypového přístroje při standardním dispenzačním režimu, vakcína BlueV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	24.776	2	12.388	5.885	0.02	3.89
Reziduum	25.258	12	2.11			
Celkem	50.034	14				

Vliv zbytkového objemu na hmotnost kapek pro NobilisV

Tab. 34: Vliv zbytkového objemu náplně na hmotnost kapky (mg) vakcíny NobilisV při standardním dispenzačním režimu za použití prototypového přístroje.

Kapání	30 ml	15 ml	7.5 ml
1	29.0	30.6	31.0
2	29.7	30.8	31.7
3	30.1	30.0	32.5
4	30.4	29.2	29.8
5	29.2	32.1	30.9
Průměr	29.7	30.5	31.2
SD	0.57	1.08	0.98



Obr. 21: Vliv zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) pro vakcínu NobilisV za použití prototypového přístroje.

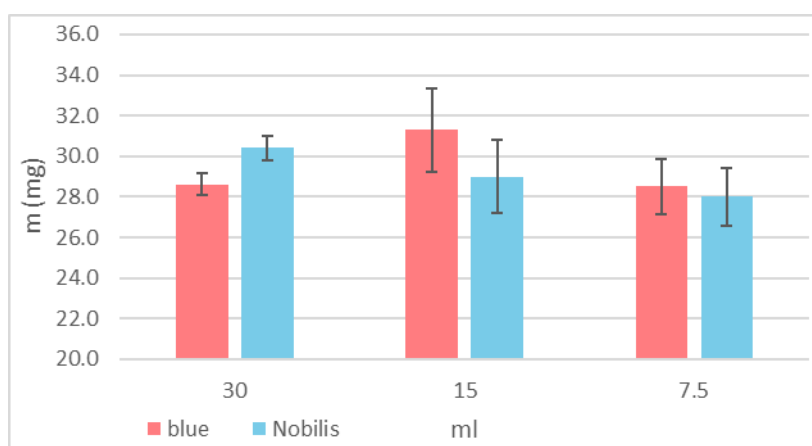
Průměrná hmotnost kapky vakcíny rekonstituované diluentem Nobilis se zmenšujícím se objemem rostla (tabulka 34). Nejmenší byla tedy pro objem 30 ml (29,7 mg) a nejvyšší pro 7,5 ml (31,2 mg). Nejvyšší variabilita dávky byla zaznamenána pro objem 15 ml a nejmenší pro 30 ml, podobně jako pro vakcínu BlueV. Vliv objemu na hmotnost kapky byl pro vakcínu NobilisV nevýznamný (tabulka 35).

Tab. 35: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu za použití prototypového přístroje při standardním dispenzačním režimu, vakcína NobilisV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	5.592	2	2.796	3.387	0.07	3.89
Reziduum	9.906	12	0.83			
Celkem	15.498	14				

Srovnání hmotnosti kapky vakcín BlueV a NobilisV za standardního dispenzačního režimu

Průměrné hmotnosti kapky 28,5 mg – 31,3 mg (BlueV) a 29,7 mg – 31,2 mg (NobilisV) byly podobné, stejně jako variabilita hmotností. Nejnižší SD byla pozorována pro 30 ml (0,54 BlueV a 0,57 NobilisV). Porovnání přípravků umožňuje obr. 22.



Obr. 22: Porovnání průměrných hmotností kapky standardním režimem za použití prototypu s vakcínami BlueV vs. NobilisV.

Dispenzaci kapek pomocí prototypového přístroje ilustrují obr. 23 a 24. Silikonová hadička má rovné (ploché) zakončení, tudíž se její povrch nesmáčel.



Obr. 23: Dispenzace vakcíny BlueV z prototypu



Obr. 24: Dispenzace vakcíny NobilisV z prototypu

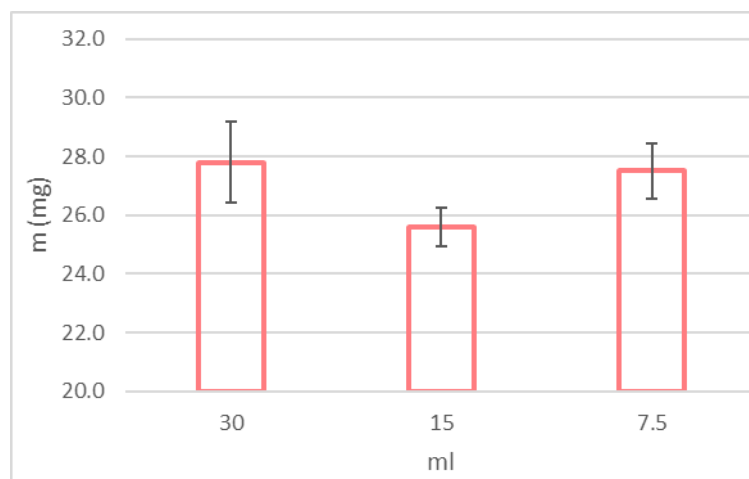
8.3.2 Režim rychlého kapání

Režim rychlého kapání byl testován u prototypu rychlým mačkáním tlačítka. Byla hodnocena průměrná hmotnost kapky (hmotnost deseti kapek vydělená deseti) a čas pro nakapání 10 kapek. Čas je důležitý zejména s ohledem využití přístroje ve veterinární praxi k očkování velkého počtu kuřat.

Vliv zbytkového objemu na hmotnost kapek BlueV při režimu rychlého kapání

Tab. 36: Vliv zbytkového objemu náplně na hmotnost kapky (mg) BlueV a čas potřebný pro nakapání deseti kapek (s) v režimu rychlého kapání za použití prototypového přístroje.

Kapání	30 ml	Čas (s) pro 30 ml	15 ml	Čas (s) pro 15 ml	7.5 ml	Čas (s) pro 7.5 ml
1	27.3	8.3	25.1	8.3	25.9	10.0
2	27.1	8.3	26.3	7.7	28.2	9.7
3	26.1	8.8	26.0	9.5	27.8	8.4
4	29.5	8.5	24.7	8.9	28.1	8.2
5	28.8	8.2	25.8	8.5	27.5	8.0
Průměr	27.8	8.4	25.6	8.6	27.5	8.9
SD	1.39	0.24	0.65	0.67	0.93	0.92



Obr. 25: Vliv zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) pro vakcínu BlueV režimu rychlého kapání za použití prototypového přístroje.

V tabulce 36 a na obr. 25 je patrná nejvyšší průměrná hmotnost kapky pro plnou lahvičku (27,8 mg), podobná hmotnost byla zaznamenána při objemu 7.5 ml (27,5 mg), naopak nejmenší hmotnost (25,6 mg) byla při objemu 15 ml. Při objemu 30 ml však byla variabilita hmotností nejvyšší (1,37) a nejnižší při objemu 15 ml (0,65). Čas pro aplikaci deseti kapek a zároveň variabilita zaznamenaných časů rostly s klesajícím objemem náplně lahvičky, ovšem časy se lišily jen velmi málo a měly nízkou variabilitu (SD 0,24 – 0,92).

Vliv objemu přípravku na výslednou hmotnost kapky byl významný dle tab. 37.

Tab. 37: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu za použití prototypového přístroje při režimu rychlého kapání, vakcína BlueV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	14.216	2	7.108	6.724	0.01	3.89
Reziduum	12.685	12	1.06			
Celkem	26.901	14				

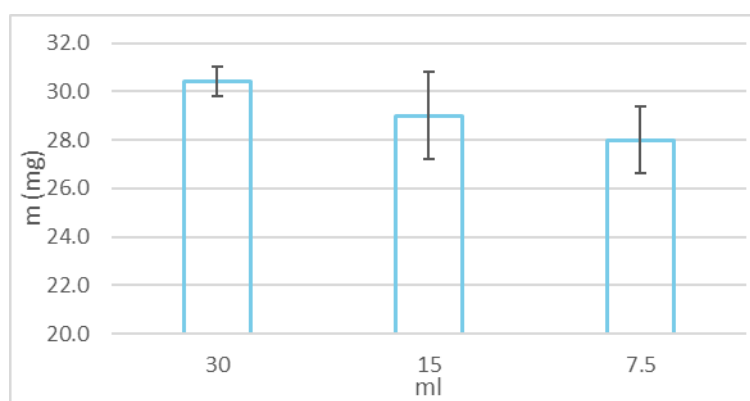
Vliv zbytkového objemu na hmotnost kapek NobilisV při režimu rychlého kapání

Průměrná hmotnost kapky pro NobilisV klesala s klesajícím objemem náplně lahvičky (obr. 26), od 30 ml (30,4 mg), přes 15 ml (29,0 mg) až po 7,5 ml (28,0 mg). Variabilita hmotností (tab. 38) byla v rozmezí od 0,6 (30 ml) do 1,8 (15 ml).

Rovněž průměrný čas (tab. 38) potřebný pro nakapání deseti kapek klesal s klesajícím objemem náplně lahvičky, nejvyšší byl pro 30 ml (9,3 s) a nejnižší pro 7,5 ml (8,8 s). Časová variabilita byla nejnižší pro 15 ml (0,8) a nejvyšší pro 30 ml (2,0).

Tab. 38: Vliv zbytkového objemu náplně na hmotnost kapky (mg) vakcíny NobilisV a čas potřebný pro nakapání deseti kapek (s) za použití prototypového přístroje za režimu rychlého kapání.

Kapání	30 ml	Čas (s) pro 30 ml	15 ml	Čas (s) pro 15 ml	7.5 ml	Čas (s) pro 7.5 ml
1	30.4	7.8	32.0	10.4	30.0	7.9
2	30.8	12.6	27.7	8.4	27.5	8.4
3	31.0	9.5	29.1	8.4	27.9	8.4
4	29.5	8.7	28.5	8.7	28.7	10.4
5	30.6	7.9	27.4	9.2	26.2	8.7
Průměr	30.4	9.3	29.0	9.0	28.0	8.8
SD	0.6	2.0	1.8	0.8	1.4	1.0



Obr. 26: Vliv zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) vakcíny NobilisV za použití prototypového přístroje režimu rychlého kapání.

Dle statistické analýzy ANOVA (tab. 39) měl objem na výslednou hmotnost kapky významný vliv ($p=0.05$).

Tab. 39: Výsledky hodnocení významnosti vlivu zbytkového objemu za použití prototypového přístroje při režimu rychlého kapání, vakcína NobilisV (ANOVA).

Zdroj variability	Součet čtverců	Stupeň volnosti	Průměrný čtverec	F-hodnota	Hladina pravděpodobnosti	F-kritická
Vliv objemu	14.821	2	7.410	3.916	0.05	3.89
Reziduum	22.710	12	1.89			
Celkem	37.531	14				

Srovnání hmotnosti kapky BlueV vs. NobilisV při režimu rychlého kapání

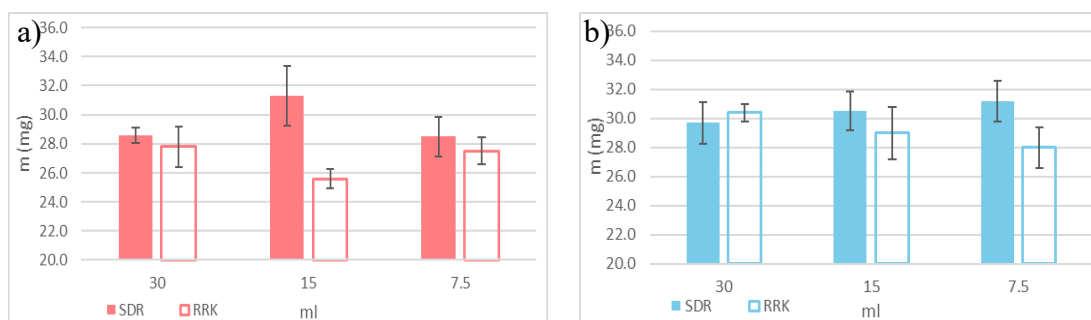
V tab. 40 jsou shrnutá rozmezí naměřených hodnot při režimu rychlého kapání pro obě vakcíny. Při kapání NobilisV měly kapky vyšší průměrnou hmotnost než BlueV a stejně tak to platilo i pro čas potřebný na dispenzaci deseti kapek. Variabilita hmotností i variabilita času byla menší pro BlueV.

Tab. 40: Shrnutí rozmezí naměřených parametrů pro režim rychlého kapání pro vakcíny BlueV vs. NobilisV.

Parametr	BlueV	NobilisV
Průměrná hmotnost kapky	25,6 mg – 27,8 mg	28,0 mg – 30,4 mg
Variabilita hmotností	0,65 – 1,39	0,60 – 1,8
Průměrný čas pro dispenzaci	8,4 s – 8,9 s	8,8 s – 9,3 s
variabilita času	0,24 – 0,92	0,80 – 2,0

8.3.3 Porovnání vlivu rychlosti kapání na hmotnost kapky produkované prototypem

Porovnání vlivu zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) pro vakcíny a) BlueV a b) NobilisV při standardním dispenzačním režimu a při režimu rychlého kapání za použití prototypového přístroje je možné z obr. 27.



Obr. 27: Porovnání vlivu zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) pro vakcíny a) BlueV a b) NobilisV při standardním dispenzačním režimu (SDR) a při režimu rychlého kapání (RRK) za použití prototypového přístroje.

U vakcíny BlueV jsou hmotnosti při obou režimech závislé na kombinaci faktorů a není pozorovatelný trend – při standardním dispenzačním režimu (SDR) byly hmotnosti vyšší a byla vyšší i variabilita. Hmotnosti se pohybovaly od 28,5 mg (7,5 ml) – 31,3 mg (15 ml) a při rychlém od 25,6 mg (15 ml) – 27,8 mg (30 ml).

Při porovnání režimů standardního a rychlého kapání na obr. 27 můžeme pozorovat pro NobilisV, že při standardním režimu se průměrná hmotnost kapky zvyšovala se snižujícím se objemem, zatímco při režimu rychlého kapání se hmotnost snižovala. Hodnoty NobilisV byly v rozmezí pro standardní režim od 29,7 mg (30 ml) do 31,2 mg (7,5 ml) a pro režim rychlého kapání od 28,0 mg (7,5 ml) do 30,4 mg (30 ml). Hmotnosti se tak pohybovaly okolo velmi podobných hodnot při obou režimech. Variabilita hmotností byla vyšší při režimu rychlého kapání.

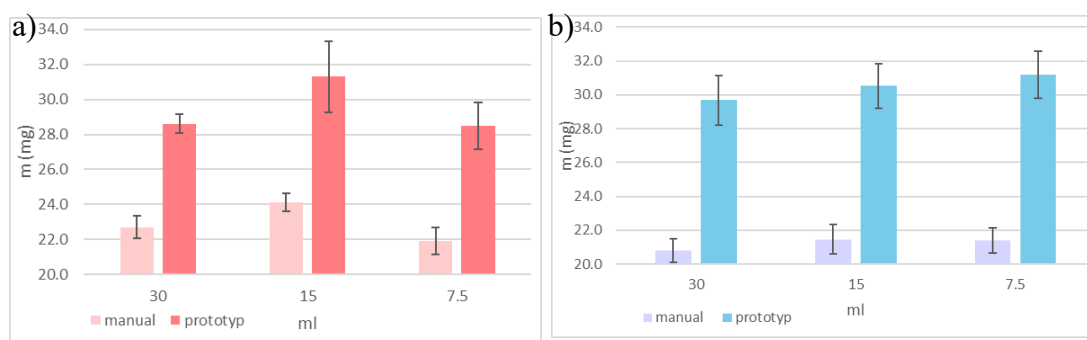
Průměrná hmotnost kapky byla nejvyšší pro NobilisV v režimu standardního kapacího režimu (30,5 mg) a nejnižší pro BlueV v režimu rychlého kapání (26,9 mg).

8.4 Porovnání manuálního kapání a prototypu

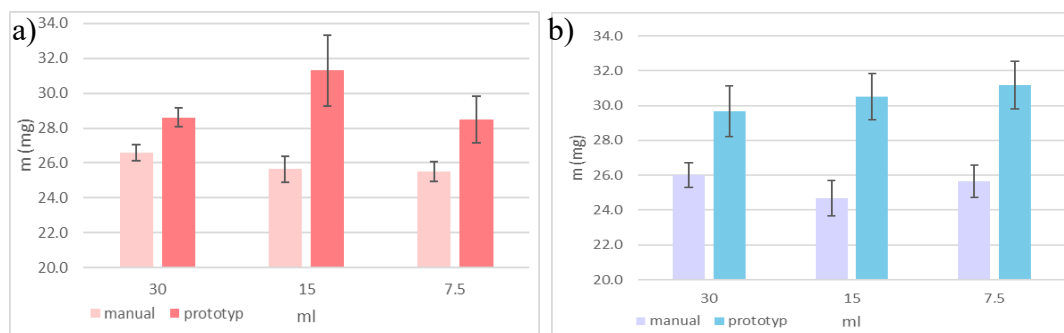
V této podkapitole se věnuji srovnání dispenzačních systémů (standardní vs. prototyp) a to dle režimu kapání (standardní nebo rychlý).

Při manuálním kapání při standardním dispenzačním režimu a úhlu 90° (Tabulky 2 a 8) jsou hmotnosti kapky produkované kapátkem menší (25,7 mg vs. ~30,0 mg) pro obě vakcíny v porovnání s hodnotami naměřenými při standardním dispenzačním režimu pro prototyp (Tab. 32 a 34), přestože byly produkovány při úhlu 45°. Vyšší hmotnost kapek z prototypu může být vysvětlena větším průměrem kapací kapiláry.

Rovněž při dispenzačním úhlu 45° a standardním dispenzačním režimu byla průměrná hmotnost kapky produkované při manuálním kapání nižší oproti použití prototypu pro obě vakcíny (Obrázek 28).



Obr. 28: Porovnání vlivu zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) pro vakcíny a) BlueV a b) NobilisV při standardním dispenzačním režimu při použití manuálního systému při úhlu 45° a prototypu.

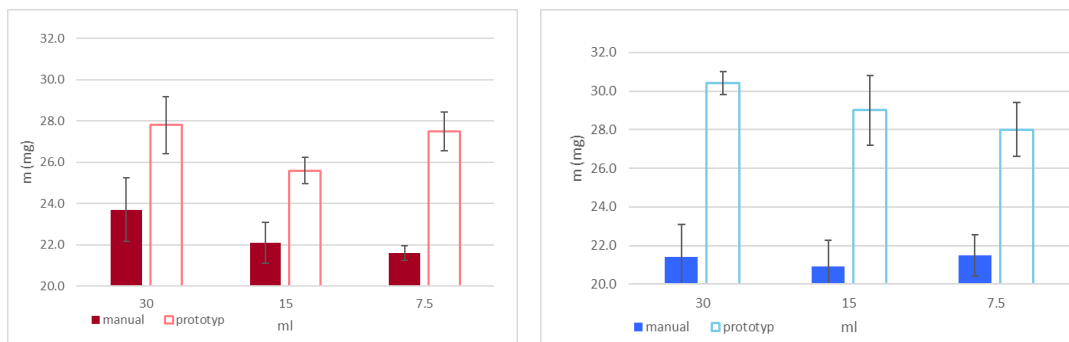


Obr. 29: Porovnání vlivu zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) pro vakcíny a) BlueV a b) NobilisV při standardním dispenzačním režimu při použití manuálního systému při úhlu 90° a prototypu.

Variabilita průměrných hmotností je u prototypu menší. Analýza rozptylu prokázala, že pro oba typy kapání měl objem přípravku významný vliv na výslednou hmotnost kapky. Pro standardní režim kapání byla nejvyšší průměrná hmotnost kapky pro NobilisV kapané prototypem (30,5 mg) a nejnižší pro tutéž vakcínu ale při manuálním kapání (25,5 mg).

Hmotnosti kapek režimu rychlého kapání jsou zaznamenány v tabulkách 2 a 8 pro manuální kapání při úhlu 90° s průměrnou hodnotou 22,1 mg (BlueV + NobilisV). Při porovnání s hmotnostmi kapek kapaných v režimu rychlého kapání prototypem v tabulkách 36 a 38 s průměrem 28,0 mg (BlueV + NobilisV) jsou nižší.

Na obr. 30a jsou znázorněné průměrné hmotnosti kapky pro BlueV v závislosti na zbytkovém objemu v lékovce při rychlém kapání. Totéž porovnání je na obr. 30b pro NobilisV. Ve všech případech byly kapky produkovány při dispenzačním úhlu 45° nižší při manuálním kapání oproti prototypu v důsledku menšího průměru kapiláry u manuálního dispenzačního systému.



Obr. 30: Porovnání vlivu zbytkového objemu náplně na hmotnost kapek (mg) vakcín a) BlueV a b) NobilisV při rychlém dispenzačním režimu při použití manuálního systému vs prototypu při úhlu 45°.

V tabulkách 15 – 17, 24 – 26, 36 a 38 je možné srovnat jednotlivé časy, které byly potřebné pro dispenzaci deseti kapek. Z naměřených výsledků vyplývá, že prototyp dispenzoval kapky výrazně rychleji oproti manuálnímu kapání.

Průměrné hmotnosti pro BlueV byly bez ohledu na objem při režimu rychlého kapání manuálně a prototypem 25,4 mg (90°), 22,5 mg (45°) a 26, 5 mg (prototyp). Pro NobilisV za stejných podmínek a ve stejném režimu byly hmotnosti 25,0 mg (90°), 21,3 mg (45°) a 29,1 mg (prototyp).

9 Závěry

Zpracováním experimentální části této rigorózní práce jsem došla k následujícím závěrům:

1. Dispenzační úhel při manuálním kapání měl vliv na výslednou hmotnost kapky při režimu standardního kapání a při režimu rychlého kapání, a to pro oba přípravky. Se snížením úhlu z 90° na 45° se snížila hmotnost dispenzovaných kapek při všech testovaných objemech (30 ml, 15 ml, 7,5 ml).
2. Při standardním dispenzačním režimu byl vliv zbytkového objemu náplně lahvičky 30 – 15 – 7,5 ml statisticky významný pro BlueV při obou úhlech a pro NobilisV pouze při úhlu 90°. S redukcí objemu se hmotnost kapky zmenšovala jen při použití BlueV při úhlu 90°. Stejný vliv byl zaznamenán rovněž pro prototyp s výjimkou objemu 15 ml pro BlueV.
3. Při manuálním kapání byla průměrná hmotnost kapky vakcíny BlueV při standardním dispenzačním režimu vyšší oproti režimu rychlého kapání, s výjimkou kombinace 45°/30 ml. Pro vakcínu NobilisV byly výsledky proměnlivé v závislosti na kombinaci vlivů, při úhlu 90° převažovala vyšší hmotnost kapky při standardním režimu a při úhlu 45° u režimu rychlého kapání.
4. Rovněž pro prototyp byla hmotnost kapky vyšší při standardním režimu než při rychlém kapání, kromě objemu 30 ml pro NobilisV.
5. Celková nejmenší variabilita naměřených hmotností byla zaznamenána pro vakcínu BlueV při manuálním kapání a standardním dispenzačním režimu 90°/30 ml. Naopak celková nejvyšší variabilita hmotností kapek byla pozorována rovněž pro vakcínu BlueV při standardním dispenzačním režimu pro objem 15 ml při použití prototypu.
6. Bez ohledu na použitý režim kapání měly kapky při použití prototypu vždy vyšší hmotnost oproti manuálnímu dispenzačnímu systému z důvodu většího rozměru dávkovací kapiláry. Variabilita však byla nižší u prototypu.
7. Teoretická hmotnost kapky byla pro oba přípravky vyšší než experimentálně zjištěná hmotnost. Pro BlueV byla teoretická hmotnost 29,3 mg vs. 25,8 mg experimentální. Pro NobilisV byla teoretická hmotnost 28,3 mg vs. 25,4 mg experimentálně.

8. Čas potřebný pro dispenzaci deseti kapek byl u prototypu výrazně kratší oproti manuálnímu kapání.

10 Použitá literatura

- ¹ Van Santvliet, L., Ludwig, A. (2004). Determinants of eye drop size. *Survey of Ophthalmology*, 49(2), 197–213. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2003.12.009> [citováno 09-12-2023]
- ² Ministerstvo Zdravotnictví ČR. Český lékopis 2017. Praha: Grada Publishing; 2017
- ³ Gaudana, R., Jwala, J., Boddu, S. H. S., Mitra, A. K. (2008). Recent perspectives in ocular drug delivery. *Pharmaceutical Research*, 26(5), 1197–1216. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9694-0> 26(5) [citováno 09-12-2023]
- ⁴ Šklubalová, Z., Vraníková, B.: Oční přípravky: (ocularia, ophthalmica). 2018. Praha: Maxdorf Jessenius, 120 s., ISBN 978-80-7345-572-9.
- ⁵ Walsh K, Jones L. The use of preservatives in dry eye drops. *Clin Ophthalmol*. 2019;13:1409-1425. Published 2019 Aug 1. doi:10.2147/OPHTH.S211611 [citováno 09-12-2023]
- ⁶ Saisyo A, Shimono R, Oie S, Kimura K, Furukawa H. The risk of microbial contamination in multiple-dose preservative-free ophthalmic preparations. *Biol Pharm Bull*. 2017;40(2):182-186. doi:10.1248/bpb.b16-00688 [citováno 09-12-2023]
- ⁷ COMOD® systém - URSAPHARM spol. s r.o. (2024, January 15). URSAPHARM Spol. s r.o. <https://ursapharm.cz/comod-system/> [citováno 09-02-2024]
- ⁸ Šklubalová Z. Protimikrobní látky v očních kapkách [Antimicrobial agents in eyedrops]. *Ceska Slov Farm*. 2004;53(3):107-116. [citováno 09-12-2023]
- ⁹ Goldstein, M. H., Silva, F. Q., Blender, N., Tran, T., Vantipalli, S. (2022). Ocular benzalkonium chloride exposure: problems and solutions. *Eye (London, England)*, 36(2), 361–368. <https://doi.org/10.1038/s41433-021-01668-x> [citováno 09-02-2024]
- ¹⁰ Noecker R. (2001). Effects of common ophthalmic preservatives on ocular health. *Advances in therapy*, 18(5), 205–215. <https://doi.org/10.1007/BF02853166> [citováno 09-12-2023]
- ¹¹ Coroi, M. C., Bungau, S., Tit, M. (2015). Preservatives from the eye drops and the ocular surface. *Romanian journal of ophthalmology*, 59(1), 2–5. [citováno 09-02-2024]

-
- ¹² Astakhov, Y. S., Astakhov, S. Y., Lisochkina, A. B. (2013). Assessment of dry eye signs and symptoms and ocular tolerance of a preservative-free lacrimal substitute (Hylabak®) versus a preserved lacrimal substitute (Systane®) used for 3 months in patients after LASIK. *Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)*, 7, 2289–2297. <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S50446> [citováno 09-02-2024]
- ¹³ Moussa, W. G. E. H., Farhat, R. G., Nehme, J., Sahyoun, M., Schakal, A., Jalkh, A., Karam, M. P. A., & Azar, G. (2018). Comparison of Efficacy and Ocular Surface Disease Index Score between Bimatoprost, Latanoprost, Travoprost, and Tafluprost in Glaucoma Patients. *Journal of Ophthalmology*, 2018, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2018/1319628> [citováno 12-12-2023]
- ¹⁴ Marsovszky, L., Resch, M. D., Visontai, Z., Németh, J. (2014). Confocal microscopy of epithelial and langerhans cells of the cornea in patients using travoprost drops containing two different preservatives. *Pathology oncology research : POR*, 20(3), 741–746. <https://doi.org/10.1007/s12253-014-9755-0> [citováno 12-12-2023]
- ¹⁵ Meloni, M., Ranzini, F., Servi, B.D. (2017). Toxicity potential of eye drops with soft preservatives versus non-preserved on human corneal epithelium. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 58, 2638–2638. [citováno 12-12-2023]
- ¹⁶ Figus, M., Agnifili, L., Lanzini, M., Brescia, L., Sartini, F., Mastropasqua, L., Posarelli, C. (2021). Topical preservative-free ophthalmic treatments: an unmet clinical need. *Expert opinion on drug delivery*, 18(6), 655–672. <https://doi.org/10.1080/17425247.2021.1860014> [citováno 13-12-2023]
- ¹⁷ Příspěvatelé projektů Wikimedia. (2023, September 13). *Tonicita*. <https://cs.wikipedia.org/wiki/Tonicita> [citováno 13-12-2023]
- ¹⁸ Dave, V. S., & Bhansali, S. G. (2016). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of ocular Drugs. In *Springer eBooks* (pp. 111–129). https://doi.org/10.1007/978-3-319-29346-2_6 [citováno 14-12-2023]
- ¹⁹ Šklubalová Z. In situ gelující polymery pro oční kapky. *Čes Slov Farm*. 2005; 54(1): 4-10. [citováno 14-12-2023]
- ²⁰ Jho, C.H., & Carreras, M. (1984). The effect of viscosity on the drop weight technique for the measurement of dynamic surface tension. *Journal of Colloid and Interface Science*, 99, 543-548. [citováno 17-12-2023]

-
- ²¹ *COMOD®-System* – Ursapharm. (n.d.). <https://hylodryeye.net/comod-system/> [citováno 17-12-2023]
- ²² *3K®-system* - URSAPHARM Arzneimittel GmbH. (2021, January 25). URSAPHARM Arzneimittel GmbH. <https://ursapharm.in/systems-and-production/3k-system/> [citováno 17-12-2023]
- ²³ *3K®-systém* – Ursapharm. (n.d.). Aero Pump. [Aero-Pump-Ophthalmic-3K-Folder.pdf \(alipharma.com\)](#) [citováno 17-12-2023]
- ²⁴ *Historie v krocích* - URSAPHARM spol. s r.o. (2019, December 16). URSAPHARM Spol. S r.o. <https://ursapharm.cz/o-firme/historie-v-krocich/> [citováno 17-12-2023]
- ²⁵ Thea Laboratories, ABAK brochure. (n.d.). [abak_brochure_eng.pdf \(laboratoires-thea.com\)](#) [citováno 17-12-2023]
- ²⁶ Thea Laboratories, ABAK inovativní systém. (n.d.). [Hyabak- úleva pro vaše oči](#) [citováno 17-12-2023]
- ²⁷ AptarGroup Inc. (2023, December 11). *Ophthalmic Squeeze Dispenser (OSD) Technology Platform | ApTAR.* Aptar. <https://aptar.com/products/pharmaceutical/ophthalmic-squeeze-dispenser-technology-platform/> [citováno 19-12-2023]
- ²⁸ *Novelia, the preservative-free multidose eye dropper | Nemera.* (2023, October 20). Nemera. <https://www.nemera.net/products/ophthalmic/novelial/> [citováno 19-12-2023]
- ²⁹ Šklubalová, Z., Zatloukal, Z. (2005). Systematic study of factors affecting eye drop size and dosing variability. *Die Pharmazie*, 60(12), 917–921. [citováno 19-12-2023]
- ³⁰ Urtti, A., Salminen, L. (1993). Minimizing systemic absorption of topically administered ophthalmic drugs. *Survey of ophthalmology*, 37(6), 435–456. [https://doi.org/10.1016/0039-6257\(93\)90141-s](https://doi.org/10.1016/0039-6257(93)90141-s) [citováno 20-12-2023]
- ³¹ Šklubalová, Z., Zatloukal, Z. (2007). Classification of plastic eye dropper tips using Harkins and Brown's factor. *Die Pharmazie*, 62(10), 750–755. [citováno 20-12-2023]
- ³² Santvliet, L.V., Ludwig, A. (2001). Influence of the dropper tip design on the size of eye-drops. *Pharmazeutische Industrie*, 63, 402-409. [citováno 20-12-2023]
- ³³ Zdráhalová, A. (2007). Studium vlivu přísady derivátů celulosy na hmotnost očních kapek. Rigorózní práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta. [citováno 20-12-2023]