

magister farmacji Ryszard Sot

**BEZPIECZEŃSTWO FIZYKOCHEMICZNE
I MIKROBIOLOGICZNE MIESZANIN STOSOWANYCH
W DOMOWYM ŻYWIENIU POZAJELITOWYM DZIECI**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Janusz Książyk

Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”

Warszawa, 2026

Podziękowania

Serdecznie dziękuję mojemu Promotorowi, prof. dr hab. n. med. Januszowi Książkowi, za znaczące wsparcie, cenne wskazówki oraz wszelką pomoc w realizacji pracy.

Dziękuję Dyrektorowi Instytutu „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka”, Panu dr n. med. Markowi Migdałowi, za okazane zaufanie, które pozwoliło mi realizować swoje cele zawodowe i naukowe. Pańska motywacja była dla mnie niezwykle ważna i dodawała mi sił do podejmowania nowych wyzwań.

Słowa wdzięczności kieruję w stronę Pani dr n. farm. Marii Ciszewskiej-Jędrasik za wiarę w moje umiejętności, która dodawała mi odwagi do podejmowania kolejnych wyzwań. Jestem ogromnie zobowiązany za wnikliwe uwagi, które pozwoliły mi spojrzeć na wiele zagadnień z nowej perspektywy i znacząco wzbogaciły moją pracę.

Serdecznie dziękuję Małgorzacie Wojtyło za życzliwość, cenne rady i wskazówki związane z procesem wydania mojej pracy.

Serdecznie dziękuję wszystkim Pracownikom Apteki Szpitalnej Instytutu „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka” za znaczące wsparcie, które towarzyszyło mi podczas realizacji moich naukowych zamierzeń.

Dziękuję mojej Rodzinie i Bliskim za ogromną wyrozumiałość oraz cierpliwość, które okazywali mi w trakcie pracy nad rozprawą. Wasza obecność i wiara w moje możliwości były dla mnie nieocenionym źródłem siły i motywacji.

Spis treści:

1. Streszczenie w języku polskim	5
2. Streszczenie w języku angielskim	9
3. Słowa kluczowe	12
4. Wykaz skrótów	12
5. Wstęp	13
5.1. Żywnienie pozajelitowe - definicja i zastosowanie	13
5.2. Domowe żywienie pozajelitowe u dzieci	14
5.3. Mieszanki all-in-one (AIO) - charakterystyka i znaczenie	15
5.4. Preparaty stosowane w żywieniu pozajelitowym	17
5.5. Stabilność fizykochemiczna mieszanin do żywienia pozajelitowego	23
5.6. Stabilność mikrobiologiczna mieszanin do żywienia pozajelitowego	29
5.7. Zintegrowany system zarządzania jakością jako strategiczny element w przygotowywaniu stabilnych mieszanin pozajelitowych	33
6. Założenia i cele pracy	38
6.1. Cel główny	38
6.2. Cele szczegółowe	38
7. Materiał i metodyka	38
7.1. Charakterystyka badanych mieszanin pozajelitowych	38
7.2. Metody oceny stabilności fizykochemicznej na podstawie parametrów teoretycznych oraz laboratoryjnych	44
7.2.1. Parametry teoretyczne do oceny stabilności mieszanin pozajelitowych ...	44
7.2.2. Parametry laboratoryjne do oceny stabilności mieszanin pozajelitowych .	46
7.3. Metody oceny stabilności mikrobiologicznej	52
7.4. Analiza statystyczna	56
8. Wyniki	57
8.1. Wartości parametrów teoretycznych i laboratoryjnych dla mieszanin stabilnych z grupy I i II	57

8.2. Wartości parametrów teoretycznych i laboratoryjnych dla mieszanin niestabilnych z grupy I i II	58
8.3. Statystyki opisowe oraz test U Manna-Whitneya dla mieszanin stabilnych oraz niestabilnych	60
8.4. Statystyki opisowe oraz test U Manna-Whitneya dla mieszanin w workach wielowarstwowych oraz jednowarstwowych	70
8.5. Statystyki opisowe oraz test U Manna-Whitneya dla mieszanin z emulsją tłuszczową Smoflipid oraz Lipidem	76
8.6. Korelacje	81
8.7. CAN (critical agregation numer) – test chi-kwadrat	88
8.8. CAN (critical agregation numer) – statystyki opisowe	90
8.9. Jony – test mediany oraz chi-kwadrat	91
8.10. Analiza stabilności mikrobiologicznej mieszanin pozajelitowych	95
9. Wnioski	98
10. Piśmiennictwo	100
11. Spis tabel, rycin oraz załączników	105

1. Streszczenie w języku polskim

Żywnienie pozajelitowe stanowi fundamentalną metodę terapii żywieniowej, umożliwiającą dostarczenie niezbędnych składników odżywczych pacjentom, u których wykorzystanie przewodu pokarmowego jest niemożliwe lub niewystarczające.

W Instytucie "Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka" w Warszawie metoda ta jest stosowana od wielu lat, przy czym szczególne znaczenie ma program domowego żywienia pozajelitowego, obejmujący obecnie 160 pacjentów. Początkowo żywienie pozajelitowe prowadzono w systemie wielu kolejno lub równolegle podłączanych butelek zawierających makro i mikroelementy. Błędy związane z nieodpowiednim mieszaniem preparatów, zaburzenia elektrolitowe i powikłania metaboliczne spowodowały, że we współczesnym żywieniu pozajelitowym preferowana jest metoda all-in-one (AIO), która polega na przygotowaniu mieszaniny dożylniej w jednym pojemniku.

Od ponad dekady w IPCZD sporządzane są kompletne mieszaniny pozajelitowe stosowane u pacjentów domowych w workach dwukomorowych, z terminem ważności 7 dni. Złożoność procesu przygotowania żywienia pozajelitowego w opakowaniach dwukomorowych oraz dodatkowe czynności manualne wykonywane przez rodziców w domu przed podłączeniem żywienia pacjentowi tj. konieczność aktywacji worka dwukomorowego polegająca na przetaczaniu emulsji tłuszczowej z komory lipidowej do komory z płynami beztłuszczowymi sprawiły, że w ostatnich miesiącach podjąłem się próby sporządzenia domowych mieszanin pediatrycznych do żywienia pozajelitowego w workach jednokomorowych.

Tematem mojej pracy doktorskiej jest ocena bezpieczeństwa fizykochemicznego i mikrobiologicznego mieszanin stosowanych w domowym żywieniu pozajelitowym u dzieci, ponieważ problem ten jest wysoce złożony i stanowi istotne wyzwanie naukowe i kliniczne. Stabilność tego rodzaju mieszanin zależy od wielu wzajemnie powiązanych czynników, takich jak skład mieszanin, warunki ich przygotowania, przechowywania oraz podawania. Niedostateczne uwzględnienie tych elementów przy opracowywaniu indywidualnej receptury na mieszaninę pozajelitową może prowadzić do destabilizacji roztworu, wytrącania się osadów, degradacji składników aktywnych, a nawet ryzyka kontaminacji mikrobiologicznej, co bezpośrednio zagraża bezpieczeństwu pacjentów. Ograniczona liczba dostępnych badań oraz brak kompleksowych analiz w tej dziedzinie uwidaczniają istotną lukę badawczą, co dodatkowo zwiększa wagę i trudność tego zagadnienia. Badania tego rodzaju wymagają nie tylko interdyscyplinarnej współpracy naukowej z udziałem klinicystów, farmaceutów

i naukowców zajmujących się formulacją, ale również zastosowania zaawansowanej metodologii badawczej, specjalistycznego sprzętu oraz uwzględnienia różnorodnych, często trudnych do przewidzenia warunków środowiskowych i klinicznych. Szczególne wyzwania wynikają zwłaszcza z konieczności symulacji rzeczywistych scenariuszy użytkowych, takich jak zmienne temperatury, czasy przechowywania czy ekspozycja na światło. Problematyka ta jest dodatkowo komplikowana w warunkach pediatrycznych, gdzie specyficzne czynniki środowiskowe, np. wysoka temperatura w inkubatorach u pacjentów neonatologicznych, mogą wpływać na stabilność mieszanin. Opracowanie całościowego zrozumienia problemu i dostarczenie praktycznych rozwiązań wymagało ode mnie zaawansowanego podejścia badawczego, co potwierdza niezwykle trudność i znaczenie tego zagadnienia.

Ważnym aspektem pracy doktorskiej była ocena możliwości wydłużenia okresu ważności mieszanin do żywienia pozajelitowego przygotowywanych w Instytucie "Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka" w Warszawie dla pacjentów domowych w worku jednokomorowym z terminem ważności 15 dni poprzez kompleksową analizę stabilności parametrów fizykochemicznych oraz mikrobiologicznych. Działanie to wymagało analizy stabilności parametrów fizykochemicznych laboratoryjnych i teoretycznych oraz potwierdzenia stabilności mikrobiologicznej dla mieszanin pozajelitowych przygotowywanych w tym schemacie. Badaniem objęto 186 składów mieszanin do żywienia pozajelitowego typu all-in-one (AIO) stosowanych w domowym żywieniu pozajelitowym dzieci, przygotowywanych w Aptece IPCZD.

Dodatkowym elementem analizy było określenie wpływu na stabilność domowych pediatrycznych mieszanin pozajelitowych rodzaju zastosowanego opakowania tj. worka jednokomorowego, jednowarstwowego względem worka jednokomorowego, wielowarstwowego oraz wpływu rodzaju zastosowanej emulsji tłuszczowej tj. Smoflipidu względem Lipidemu. W ramach oceny stabilności fizykochemicznej analizowano parametry teoretyczne, takie jak osmolarność, krytyczne stężenie elektrolitów (CAN) oraz stężenia jonów jedno- i dwuwartościowych. Badania laboratoryjne obejmowały pomiary potencjału zeta, przewodności, wielkości kropli olejowych ($D_{0.5}$, $D_{0.9}$, Z-average), indeksu polidispersji oraz pH mieszaniny.

Stabilność mikrobiologiczna była oceniana zgodnie z wymogami Farmakopei Polskiej, przy czym szczególną uwagę zwrócono na zachowanie warunków aseptycznych podczas przygotowywania mieszanin oraz kontrolę czystości przestrzeni roboczej. Badania prowadzono w kontrolowanych warunkach temperaturowych 2-8°C przez okres 15 dni.

Statystykę oparto o analizę rozkładów zmiennych, która okazała się nie mieć charakterystyki rozkładu normalnego w teście Shapiro-Wilka, co zdeterminowało wybór testów nieparametrycznych jako głównych narzędzi analitycznych.

Wykazano, że wydłużenie okresu ważności domowych mieszanin do żywienia pozajelitowego z 7 do 15 dni jest możliwe pod warunkiem spełnienia określonych kryteriów stabilności fizykochemicznej i mikrobiologicznej. Parametry fizykochemiczne stanowią fundamentalne narzędzie screeningowe w ocenie bezpieczeństwa mieszanin do żywienia pozajelitowego. Szczególnie istotna jest analiza potencjału zeta jako wskaźnika stabilności emulsji oraz wielkość kropli olejowych tj. D0.5, D0.9, Z-average. Są one czułymi i specyficznymi parametrami oceny stabilności domowych mieszanin pozajelitowych. Przeprowadzona analiza wykazała także, że worki wielowarstwowe i emulsja Lipidem zapewniają lepszą stabilność mieszanin do żywienia pozajelitowego w porównaniu do worków jednowarstwowych i emulsji Smoflipid. Parametry teoretyczne czyli CAN oraz stężenia jonów jedno- i dwuwartościowych nie są wystarczającymi wskaźnikami do oceny stabilności mieszanin, ponieważ występują zarówno mieszaniny stabilne z wysokim CAN, jak i niestabilne z niskim CAN. Podobna sytuacja dotyczy stężeń jonów, gdzie przekroczenie teoretycznych wartości granicznych nie determinuje niestabilności mieszaniny. Dodatkowo w przeprowadzonej analizie pracy doktorskiej, na podstawie zrealizowanych badań mikrobiologicznych, potwierdzono zachowanie stabilności mikrobiologicznej domowych mieszanin do żywienia pozajelitowego przez okres 15 dni podczas przechowywania w warunkach chłodniczych 2-8°C oraz przez kolejne 24 godziny w trakcie podawania mieszaniny w temperaturze pokojowej.

Wykazanie bezpieczeństwa fizykochemicznego oraz mikrobiologicznego mieszanin pozajelitowych AIO stabilnych przez okres 15 dni ma istotne znaczenie praktyczne w kontekście modyfikacji schematu zlecenia, przygotowania oraz zaopatrzenia pacjentów z programu domowego żywienia pozajelitowego. Proponowane zmiany przyczynią się do poprawy komfortu opieki nad pacjentem pediatrycznym w warunkach domowych poprzez ograniczenie liczby operacji manualnych wykonywanych przez rodziców i opiekunów. Jednocześnie zmniejszą one istotnie koszty logistyczne związane z transportem mieszanin pozajelitowych, ponieważ dostawy tych mieszanin będą realizowane nie co tydzień, lecz co 15 dni. Taka zmiana pozwoli na optymalizację procesów logistycznych, redukcję częstotliwości transportu oraz zmniejszenie obciążeń finansowych dla IPCZD związanych z ich realizacją. Przeprowadzona analiza oraz badania umożliwią także stworzenie bazy

danych stabilnych mieszanin pozajelitowych, która w przyszłości może zostać zintegrowana z programem do zlecenia żywienia pozajelitowego "Żywczyk", wspomagając proces doboru bezpiecznych zakresów stężeń poszczególnych składników w oparciu o indywidualne zapotrzebowanie kliniczne pacjenta.

2. Streszczenie w języku angielskim

Parenteral nutrition is a fundamental method of nutritional therapy. It enables the delivery of essential nutrients to patients for whom the use of the gastrointestinal tract is impossible or insufficient.

This method has been used for many years at the Children's Memorial Health Institute in Warsaw. Particular importance is placed on the home parenteral nutrition program, which currently includes 160 patients. Initially, parenteral nutrition was administered using a system of multiple bottles containing macro and microelements, connected sequentially or in parallel. Errors related to improper mixing of preparations, electrolyte disturbances, and metabolic complications led to the preference for the all-in-one (AIO) method in modern parenteral nutrition, which involves preparing an intravenous mixture in a single container.

For over a decade, complete parenteral mixtures have been prepared at IPCZD for home patients in two-chamber bags with a 7-day shelf life. The complexity of preparing parenteral nutrition in two-chamber packages and additional manual activities performed by parents at home before connecting nutrition to the patient, i.e., the need to activate the two-chamber bag by transferring the lipid emulsion from the lipid chamber to the fat-free fluid chamber, led me to attempt preparing pediatric home parenteral nutrition mixtures in single-chamber bags in recent months.

The subject of my doctoral dissertation is the evaluation of the physicochemical and microbiological safety of mixtures used in home parenteral nutrition in children, as this issue is highly complex and represents a significant scientific and clinical challenge. The stability of such mixtures depends on many interrelated factors, such as their composition, conditions of preparation, storage, and administration. Insufficient consideration of these elements when developing an individualized parenteral mixture formula can lead to solution destabilization, precipitation of sediments, degradation of active ingredients, or even the risk of microbiological contamination, which directly threatens patient safety. The limited number of available studies and the lack of comprehensive analyses in this field highlight a significant research gap, further increasing the importance and difficulty of this issue. Research of this kind requires not only interdisciplinary scientific collaboration involving clinicians, pharmacists, and formulation scientists but also the application of advanced research methodologies, specialized equipment, and consideration of various often unpredictable environmental and clinical conditions. Particular challenges arise from the need to simulate

real-life usage scenarios, such as variable temperatures, storage times, or light exposure. This issue becomes even more complicated in pediatric settings, where specific environmental factors—such as high temperatures in incubators for neonatal patients—can affect the stability of these mixtures. Developing a comprehensive understanding of the problem and providing practical solutions required me to adopt an advanced research approach, which underscores both the extraordinary difficulty and importance of this topic.

An important aspect of the doctoral dissertation was the evaluation of the possibility of extending the shelf life of parenteral nutrition mixtures prepared at the Institute "Children's Memorial Health Institute" in Warsaw for home patients in single-chamber bags with a 15-day shelf life through a comprehensive analysis of the stability of physicochemical and microbiological parameters. This required analysis of laboratory and theoretical physicochemical stability parameters and confirmation of microbiological stability for parenteral mixtures prepared in this scheme. The study included 186 compositions of all-in-one (AIO) parenteral nutrition mixtures used in home pediatric parenteral nutrition prepared at the IPCZD Pharmacy.

An additional aim of the analysis was to determine the impact on the stability of home pediatric parenteral mixtures of the type of packaging used, i.e., single-layer single-chamber bag versus multi-layer single-chamber bag, and the impact of the type of lipid emulsion used, i.e., Smoflipid versus Lipidem. The physicochemical stability assessment analyzed theoretical parameters such as osmolarity, critical aggregation number (CAN), and mono- and divalent ion concentrations. Laboratory tests included measurements of zeta potential, conductivity, oil droplet size (D 0.5, D 0.9, Z-average), polydispersity index, and mixture pH.

Microbiological stability was assessed according to Polish Pharmacopoeia requirements, with particular attention paid to maintaining aseptic conditions during mixture preparation and workspace cleanliness control. Studies were conducted under controlled temperature conditions 2-8°C for 15 days.

Statistics were based on variable distribution analysis, which proved not to have normal distribution characteristics in the Shapiro-Wilk test, determining the choice of non-parametric tests as the main analytical tools.

It was demonstrated that extending the shelf life of home parenteral nutrition mixtures from 7 to 15 days is possible provided specific physicochemical and microbiological stability criteria are met. Physicochemical parameters are fundamental screening tools in assessing the safety

of parenteral nutrition mixtures. Particularly important is the analysis of zeta potential as an indicator of emulsion stability and oil droplet size, i.e., D 0.5, D 0.9, Z-average. These are sensitive and specific parameters for assessing the stability of home parenteral mixtures. The analysis also showed that multi-layer bags and Lipidem emulsion provide better stability of parenteral nutrition mixtures compared to single-layer bags and Smoflipid emulsion. Theoretical parameters, i.e., CAN and mono- and divalent ion concentrations, are not sufficient indicators for assessing mixture stability, as there are both stable mixtures with high CAN and unstable ones with low CAN, and a similar situation applies to ion concentrations, where exceeding theoretical threshold values does not determine mixture instability. Additionally, in the conducted doctoral dissertation analysis, based on completed microbiological studies, microbiological stability of home parenteral nutrition mixtures was confirmed for 15 days during refrigerated storage 2-8°C and for an additional 24 hours during mixture administration at room temperature.

Demonstrating the physicochemical and microbiological safety of AIO parenteral mixtures stable for 15 days has significant practical importance in the context of modifying the prescription, preparation, and supply scheme for patients in the home parenteral nutrition program. The proposed changes will improve the comfort of pediatric patient care in home conditions by reducing the number of manual operations performed by caregivers and significantly lower logistical costs associated with mixture transport. The conducted analysis and research will also enable the creation of a database of stable parenteral mixtures, which in the future may be integrated with the 'Żywcyk' parenteral nutrition prescription program, supporting the process of selecting safe concentration ranges for individual components based on the patient's individual clinical needs.

3. Słowa kluczowe

żywienie pozajelitowe, mieszanina all-in-one, domowe żywienie pozajelitowe, kompletne żywienie pozajelitowe, stabilność fizykochemiczna, stabilność mikrobiologiczna, makroelementy, mikroelementy, kontaminacja, jałowość, aseptyka, sterylność, test media-fill, dobra praktyka wytwarzania, klasa czystości A, B, C, D, seria produkcyjna.

4. Wykaz skrótów

IPCZD - Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”

FP - Farmakopea Polska

ŻP - Żywienie Pozajelitowe

DŻP - Domowe Żywienie Pozajelitowe

GMP - Dobra Praktyka Produkcyjna

TSB - Bulion Tryptonowo-Sojowy

AC - Podłoże Agar Columbia z krwią

SAB - Podłoże Agar Sabouraud

AIO - Wszystko w jednym (ang. All-in-one)

CAN - Krytyczne Stężenie Elektrolitów

EVA - Etylenowinylooctan

PŻP - Pracownia Żywienia Pozajelitowego

TPN - Total parenteral nutrition

NNKT – Niezbędne Nienasycone Kwasy Tłuszczowe

ET - Emulsja Tłuszczowa

AA - Aminokwasy

h – Godzina

5. Wstęp

5.1. Żywnienie pozajelitowe - definicja i zastosowanie

Żywnienie pozajelitowe polega na dożyłnej podaży energii i azotu w postaci aminokwasów, łącznie z dodatkiem elektrolitów, soli wapnia, fosforanów, pierwiastków śladowych i witamin, odpowiedniej do okresu choroby i stanu chorego. Głównym wskazaniem do zastosowania tej metody jest niewydolność układu pokarmowego, czyli niezdolność jelit do wchłaniania odpowiedniej ilości białek, energii pochodzącej z węglowodanów i tłuszczów, mikroelementów (witamin, minerałów, elektrolitów) oraz wody. Przyczyną tego mogą być zarówno anatomiczne, jak i funkcjonalne zmiany wrodzone, przebyte zabiegi chirurgiczne, niewydolność narządów układu pokarmowego, wrodzone zaburzenia funkcji jelit, zaburzenia z ukrwieniem jelit i ich perystaltyką, jak również zmiany zapalne w jelitach lub innych narządach układu pokarmowego [1].

Żywnienie pozajelitowe u dzieci jest tematem złożonym z powodu różnorodności wskazań i potrzeb żywieniowych pacjentów w różnych grupach wiekowych. U noworodków, zwłaszcza wcześniaków o bardzo niskiej masie urodzeniowej, potrzeby te różnią się znacząco od wymagań dzieci starszych. W populacji pediatrycznej ŻP jest niezbędne przy schorzeniach takich jak niewydolność jelit, ciężkie zaburzenia wchłaniania czy choroby metaboliczne. Równocześnie jednak sama terapia wiąże się z szeregiem trudności obejmujących zarówno wybór odpowiednich preparatów odżywczych, jak i zarządzanie stabilnością mieszanin pozajelitowych [2].

Jednym z głównych wyzwań w żywieniu pozajelitowym dzieci jest konieczność zachowania stabilności mieszaniny oraz kompatybilności składników. Niestabilność odnosi się do chemicznych, fizycznych i mikrobiologicznych cech mieszaniny i może prowadzić do utraty terapeutycznej skuteczności, a nawet do działań niepożądanych. W przypadku populacji pediatrycznej problem ten jest szczególnie istotny, ponieważ mieszaniny do ŻP przygotowywane dla dzieci są bardziej narażone na niestabilność z powodu większych stężeń kationów dwuwartościowych, czy fosforanów.

Czynniki środowiskowe, takie jak zmiany temperatury, ekspozycja na światło czy obecność pierwiastków śladowych, mają krytyczne znaczenie dla bezpieczeństwa terapii. Ponadto wybór materiałów używanych do przechowywania i podawania mieszanin (np. materiały pojemników i linii infuzyjnych) wpływa na stabilność preparatów. Każda interakcja między

składnikami — zarówno makroskładnikami (np. aminokwasami, glukozą, lipidami) jak i czynnikami nie odżywczymi (np. światło) — wymaga starannego monitorowania [2].

W praktyce klinicznej żywienie pozajelitowe może być realizowane za pomocą standaryzowanych mieszanin TPN lub indywidualizowanych mieszanin dostosowanych do specyficznych potrzeb pacjenta. W pediatrii zindywidualizowane TPN są przygotowywane na podstawie recept dostosowanych do konkretnego pacjenta i pozwalają na precyzyjne dopasowanie składu mieszaniny do specyficznych wymagań klinicznych. Jednocześnie są one bardziej narażone na problemy ze stabilnością i kompatybilnością.

Pomimo postępów w technologii TPN, potrzeba dalszych badań nad optymalizacją terapii szczególnie w populacji pediatrycznej pozostaje istotna. Tym samym żywienie pozajelitowe u dzieci pozostaje tematem o dużym stopniu trudności, w którym precyzyjne dostosowanie do indywidualnych potrzeb pacjenta stanowi warunek sukcesu terapeutycznego [2].

5.2. Domowe żywienie pozajelitowe u dzieci

Domowe żywienie pozajelitowe (DŻP) stosowane jest u dzieci z przewlekłą niewydolnością przewodu pokarmowego u których leczenie żywieniowe jest długotrwałe i jest możliwe do zastosowania w warunkach poza szpitalnych.

W Polsce DŻP wprowadzono w 1984 roku, a od 1998 roku procedura ta uzyskała status świadczenia wysokospecjalistycznego, refundowanego przez państwo [3]. Rozwój tej metody leczenia był ściśle związany z postępem medycyny, zwłaszcza w zakresie technik dostępu naczyniowego oraz opracowywania bezpiecznych mieszanin żywieniowych [4].

W Polsce istnieje kilka ośrodków specjalizujących się w domowym żywieniu pozajelitowym u dzieci. Jednym z wiodących jest Instytut "Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka" w Warszawie, który prowadzi tę formę leczenia od ponad trzech dekad. Proces kwalifikacji do DŻP odbywa się w szpitalu i obejmuje intensywne szkolenie rodziców. Szkolenie to koncentruje się na głównych aspektach prowadzenia terapii, takich jak obsługa i pielęgnacja cewnika centralnego, podłączanie i odłączanie worka żywieniowego, obsługa pompy infuzyjnej. Kluczową rolę odgrywa zespół żywieniowy, składający się z lekarzy, pielęgniarek, dietetyków oraz farmaceutów, którzy zapewniają ciągłą opiekę i wsparcie dla pacjentów oraz ich rodzin. Zaleca się, by w ramach przygotowań do domowej terapii żywieniowej, zespół żywieniowy z udziałem farmaceuty przeprowadzał szkolenie, zgodne z wewnętrznymi procedurami szpitala, obejmujące także zasady postępowania z mieszaniną do żywienia pozajelitowego.

Farmaceuta powinien przekazać pacjentowi lub jego opiekunowi wiedzę m.in. w zakresie:

1. Prawidłowego przechowywania mieszanin, innych leków i wyrobów medycznych.
2. Stosowania techniki aseptycznej.
3. Dezynfekcji miejsca przygotowania.
4. Właściwego obchodzenia się z mieszaniną przed podaniem.
5. Reagowania w sytuacjach awaryjnych.
6. Przebieg szkolenia wymaga odpowiedniego udokumentowania.

W Polsce pediatryczne mieszaniny żywieniowe są w ogromnej większości przygotowywane w aptekach szpitalnych lub w nielicznych przypadkach przez opiekunów w domu ze składników dostarczonych z apteki. Zarządzenie Prezesa NFZ z kwietnia 2023 r. precyzuje warunki prowadzenia domowego żywienia pozajelitowego. Apteka szpitalna jest zobowiązana do dostarczania pacjentom niezbędnych preparatów, sprzętu i środków opatrunkowych.

Szacunkowa liczba chorych pediatrycznych żywionych pozajelitowo w domu w Polsce wynosi około 250 osób, w tym pod opieką IPCZD jest obecnie 160 pacjentów.

Domowe żywienie pozajelitowe u dzieci stanowi ważną metodę leczenia żywieniowego, umożliwiającą pacjentom pediatrycznym z przewlekłą niewydolnością przewodu pokarmowego funkcjonowanie w warunkach domowych. W Polsce, mimo ograniczeń związanych z niewielką liczbą pracowni żywienia pozajelitowego w aptekach szpitalnych, obserwuje się stały rozwój tej formy leczenia. Istotne jest również prowadzenie badań naukowych mających na celu optymalizację składu mieszanin żywieniowych, minimalizację powikłań oraz poprawę jakości życia pacjentów. Wyzwaniem na przyszłość pozostaje zwiększenie dostępności DŻP oraz dążenie do standaryzacji opieki nad pacjentami w skali globalnej.

Podsumowując, domowe żywienie pozajelitowe u dzieci stanowi złożoną, ale niezwykle wartościową formę leczenia, która wymaga ścisłej współpracy między pacjentami, ich rodzinami a zespołem medycznym. Dalszy rozwój DŻP ma kluczowe znaczenie dla korzystnych rokowań u dzieci z przewlekłą niewydolnością przewodu pokarmowego.

5.3. Mieszaniny all-in-one (AIO) - charakterystyka i znaczenie

Ewolucja metod żywienia pozajelitowego na przestrzeni ostatnich dekad doprowadziła do opracowania zaawansowanych systemów dostarczania składników odżywczych. Szczególne znaczenie w tym kontekście przypisuje się mieszaninom typu all-in-one (AIO), które zrewolucjonizowały podejście do terapii żywieniowej [5]. Warto zaznaczyć, że implementacja

tego rozwiązania stanowiła znaczący postęp w dziedzinie żywienia klinicznego i zrewolucjonizowała podejście do suplementacji składników odżywczych drogą pozajelitową. Fundamentalnym założeniem mieszanin typu all-in-one jest umieszczenie wszystkich niezbędnych komponentów odżywczych w jednej homogennej formie farmaceutycznej [6].

Mieszanina AIO dostarcza jednocześnie makroskładników odżywczych (aminokwasy, węglowodany i lipidy), które stanowią źródło kalorii i białka, oraz mikroskładników odżywczych (elektrolity, witaminy i pierwiastki śladowe), które uzupełniają dietę. Dodanie wszystkich składników odżywczych w tym samym pojemniku zmniejsza manipulacje i ryzyko zanieczyszczenia oraz jest bardziej opłacalne niż oddzielne podawanie składników. Niemniej jednak może to spowodować interakcję między tymi składnikami i prowadzić do niestabilności mieszaniny oraz zagrożenia dla jej bezpieczeństwa [7].

Podanie AIO znacząco poprawia efektywność terapii oraz zmniejsza liczbę powikłań związanych z żywieniem pozajelitowym. Możliwość indywidualizacji składu mieszaniny pozwala na optymalne dostosowanie terapii do potrzeb konkretnego pacjenta. Bezpieczeństwo stosowania mieszanin AIO jest zapewnione poprzez minimalizację ryzyka kontaminacji [8] oraz precyzyjną kontrolę podaży składników odżywczych. Roztwory aminokwasów, zarówno egzogennych jak i endogennych, odgrywają kluczową rolę w procesach anabolicznych organizmu [9]. Substancje energetyczne w postaci glukozy stanowią zasadnicze źródło energii w mieszaninach AIO [10]. Stężenie tego węglowodanu podlega modyfikacjom w zależności od zapotrzebowania energetycznego pacjenta oraz jego wydolności metabolicznej. W zakresie komponentów lipidowych, mieszaniny AIO zawierają zaawansowane emulsje tłuszczowe [11]. Stosowane są trójglicerydy o zróżnicowanej długości łańcucha węglowego, które zapewniają optymalne wykorzystanie energetyczne. Istotnym elementem są również kwasy tłuszczowe z grupy omega-3 oraz preparaty wpływające na właściwości immunomodulujące mieszaniny pozajelitowej. Pierwiastki śladowe występujące w formie jonowej w mieszaninach pozajelitowych AIO [12] są precyzyjnie dobierane dla zachowania równowagi elektrolitowej. Ich stężenia podlegają ścisłej kontroli w celu uniknięcia potencjalnych interakcji z innymi składnikami. Obecność pierwiastków śladowych w mieszaninach AIO jest niezbędna dla prawidłowego przebiegu procesów metabolicznych. Kompleks witamin w mieszaninach AIO obejmuje zarówno związki hydrofilne, jak i lipofilne. Ważną rolę odgrywają koenzymy, które uczestniczą w podstawowych procesach metabolicznych.

Proces wytwarzania mieszanin AIO wymaga rygorystycznego przestrzegania warunków środowiskowych [13]. Kontrola czystości mikrobiologicznej oraz monitoring parametrów fizycznych stanowią podstawę zapewnienia jakości dla produktu końcowego. Zachowanie standardów aseptyki jest bezwzględnym wymogiem na każdym etapie produkcji. Procedury technologiczne obejmują precyzyjnie określoną sekwencję dodawania poszczególnych składników. Kontrola parametrów fizykochemicznych powinna odbywać się w sposób ciągły, a cały proces należy dokumentować. Szczególną uwagę poświęca się stabilności mieszanin AIO, uwzględniając zarówno czynniki fizykochemiczne, jak i aspekty mikrobiologiczne. Mieszaniny AIO, charakteryzujące się wysoką wartością odżywczą, mogą stanowić potencjalne medium dla proliferacji drobnoustrojów.

Rozwój mieszanin AIO zmierza w kierunku dalszej optymalizacji składu oraz poprawy stabilności produktu leczniczego. Postęp technologiczny w zakresie produkcji oraz pogłębiona wiedza o interakcjach między składnikowych umożliwiają ciągle doskonalenie tej formy terapii żywieniowej.

5.4. Preparaty stosowane w żywieniu pozajelitowym

Przygotowanie mieszaniny do żywienia pozajelitowego charakteryzuje się wysokim stopniem złożoności, obejmując szereg substancji odżywczych niezbędnych do utrzymania homeostazy organizmu. W skład mieszaniny do żywienia pozajelitowego wchodzi makroskładniki pokarmowe (węglowodany, aminokwasy oraz emulsje lipidowe) oraz mikroskładniki (witaminy, pierwiastki śladowe oraz elektrolity).

Odpowiednie zaprojektowanie i przygotowanie mieszanin do żywienia pozajelitowego jest procesem wieloetapowym, który wymaga uwzględnienia zarówno podstawowych potrzeb metabolicznych pacjenta, jak i szczególnych warunków klinicznych wpływających na stabilność i kompatybilność roztworów.

Zagadnienia takie jak kompatybilność preparatów, wpływ temperatury, czasu przechowywania czy ekspozycji na światło na ich stabilność są przedmiotem badań, zarówno w środowisku klinicznym, jak i w przemyśle farmaceutycznym [2].

W kontekście żywienia pozajelitowego dzieci szczególnie istotne staje się dostosowanie składu mieszaniny pozajelitowej do specyficznych potrzeb metabolicznych tej grupy pacjentów. Na przykład noworodki wymagają roztworów o wyższych stężeniach glukozy, co niesie ze sobą dodatkowe wyzwania w zakresie stabilności oraz potencjalnych interakcji składników. Również aminokwasy pełnią istotną rolę w formulacji mieszanin pozajelitowych,

wymagając precyzyjnego bilansu między ich działaniem buforującym a ryzykiem zakwaszenia mieszaniny [2].

Zagadnienia te są szczególnie krytyczne w warunkach intensywnej terapii neonatologicznej, gdzie czynniki środowiskowe, takie jak wysoka temperatura inkubatorów czy wolne tempo infuzji, mogą dodatkowo wpływać na stabilność preparatów. Kompleksowe podejście do projektowania i oceny mieszanin odżywczych, uwzględniające zarówno aspekty kliniczne, jak i technologiczne, jest niezbędne dla zapewnienia skuteczności i bezpieczeństwa terapii żywieniowej u dzieci.

W niniejszym rozdziale omówiłem specyfikę preparatów stosowanych w żywieniu pozajelitowym dzieci, ze szczególnym uwzględnieniem ich składu, właściwości fizykochemicznych oraz czynników determinujących ich stabilność i kompatybilność.

1. Aminokwasy

Współczesna terapia żywieniowa wykorzystuje zaawansowane technologicznie preparaty aminokwasowe, których kompozycja została opracowana w oparciu o szczegółowe badania nad metabolizmem białkowo-energetycznym organizmu. Zastosowanie znajdują wyłącznie krystaliczne L-aminokwasy o wysokiej czystości. W aspekcie biochemicznym, preparaty aminokwasowe stanowią kompozycję aminokwasów egzogennych i endogennych, których skład odzwierciedla profil aminokwasowy białek o wysokiej wartości biologicznej [14]. W żywieniu pozajelitowym noworodków oraz niemowląt wzorcem jest białko mleka kobiecego i skład krwi pępowinowej [15]. W przypadku niewydolności narządowej stosuje się preparaty o zmodyfikowanym składzie. U pacjentów z encefalopatią wątrobową wykorzystuje się roztwory wzbogacone w aminokwasy rozgałęzione, przy jednoczesnej redukcji zawartości aminokwasów aromatycznych [16]. Z kolei w niewydolności nerek stosuje się preparaty o podwyższonej zawartości histydyny i zmodyfikowanym profilu aminokwasów niezbędnych. Roztwory aminokwasów cechuje pH w zakresie 5,1-7,0 oraz osmolarność na poziomie 490-1480 mOsm/l. Muszą być one kompatybilne z pozostałymi składnikami mieszanin odżywczych, takimi jak elektrolity, pierwiastki śladowe czy witaminy. Wyższe stężenia AA poprawiają stabilność mieszaniny z powodu ich buforującego działania [17]. Stabilność ta determinuje możliwości komponowania kompletnych mieszanin żywieniowych. Końcowe stężenie aminokwasów (AA) w mieszaninie odżywczej istotnie oddziałuje na składniki lipidowe oraz kompleksy wapniowo-fosforanowe (Ca-P) w całkowitym żywieniu pozajelitowym (TPN). Zwiększone stężenie aminokwasów sprzyja stabilności emulsji lipidowej, co wynika z ich właściwości buforujących, ale także ogranicza proces wytrącania się soli wapniowo-fosforanowych. Niemniej jednak, kwaśny charakter

niektórych aminokwasów może destabilizować emulsję lipidową, ponieważ obniżenie pH prowadzi do zjawisk takich jak śmietankowanie i rozpad emulsji. Mieszaniny TPN bogate w aminokwasy rozgałęzione, charakterystyczne dla preparatów przeznaczonych dla noworodków, charakteryzują się niższym pH, co potencjalnie zwiększa ryzyko destabilizacji emulsji. Aminokwasy same w sobie są podatne na degradację w środowisku o niskim pH, a proces ten jest dodatkowo intensyfikowany przez wysoką zawartość glukozy, typową dla rozwiązań TPN stosowanych u noworodków. Relacje pomiędzy aminokwasami a elektrolitami w TPN są z kolei wielowymiarowe. Na przykład właściwości buforujące aminokwasów ograniczają ryzyko wytrącania się soli wapniowo-fosforanowych. Z kolei obecność substancji o właściwościach redukujących, takich jak cysteina, może wpływać na biodostępność witamin podatnych na utlenianie, takich jak kwas askorbinowy. Degradacja aminokwasów może dotyczyć zarówno całej cząsteczki, jak i wybranych grup bocznych. W warunkach podwyższonej temperatury proces ten może prowadzić do powstawania produktów degradacji, takich jak amoniak czy dwutlenek węgla [2].

2. Węglowodany

Glukoza jest głównym substratem energetycznym, pokrywając od 60% do 70% całkowitego zapotrzebowania energetycznego organizmu i jednocześnie jedynym węglowodanem stosowanym w żywieniu pozajelitowym. Należy mieć świadomość fizykochemicznych właściwości glukozy w mieszaninie pozajelitowej, zarówno podczas przygotowywania, jak i podawania. Wysokie stężenia glukozy o wysokiej kwasowości roztworu w ŻP mogą powodować zakłócenia w fazie lipidowej i powodować niestabilność TPN [17].

Monohydrat glukozy wykazuje tendencję do zakwaszania środowiska, co prowadzi do wartości pH w zakresie od 3,5 do 4,5 w mieszaninach do żywienia pozajelitowego, w zależności od stężenia oraz obecności substancji buforujących. Parametr pH glukozy odgrywa kluczową rolę w ocenie stabilności oraz zdolności do współistnienia tego składnika z innymi substancjami roztworów żywieniowych lub równocześnie podawanymi preparatami. Roztwory glukozy o wysokim stężeniu mogą zaburzać strukturę mieszanin, prowadząc do destabilizacji fazy lipidowej. Dodatkowo, glukoza może wchodzić w reakcje chemiczne z innymi elementami składowymi mieszaniny. Z uwagi na właściwości redukujące glukozy istnieje możliwość ograniczenia biodostępności aminokwasów oraz powstawania związków o działaniu toksycznym. Intensywność tych reakcji redukujących jest modyfikowana przez różne czynniki, takie jak wartość pH, temperatura oraz stężenie cukrów redukujących obecnych w mieszaninie [2].

3. Emulsje tłuszczowe

Emulsje lipidowe stanowią podstawowy makroelement żywienia pozajelitowego, zapewniając od 30% do 40% całkowitego zapotrzebowania energetycznego u większości pacjentów. Preparaty lipidowe charakteryzują się wysoką wartością energetyczną 10 kcal/g podanego tłuszczu. Emulsje lipidowe stanowią nośnik dla egzogennych niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), w szczególności kwasu linolowego (ω -6) oraz α -linolenowego (ω -3). Dodatkowo uczestniczą w transporcie witamin lipofilnych oraz stanowią substrat do syntezy eikozanoidów, w tym prostaglandyn. Zawarty w emulsjach lipidowych olej sojowy, charakteryzuje się wysoką zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych ω -6 (PUFA) o długich łańcuchach węglowych (LCT). Współczesne formułacje zawierają również olej z oliwek (źródło MUFA ω -9) oraz triglicerydy średniołańcuchowe (MCT). Od kilku lat w składach emulsji tłuszczowych zawarty jest olej rybi, stanowiący źródło PUFA ω -3. Istotnym elementem formułacji są emulgatory, gdzie kluczową rolę odgrywają fosfolipidy, w szczególności lecytyna pochodząca z żółtka jaja kurzego, która pomaga utrzymać stabilność mieszaniny [17], poprzez generowanie ujemnych sił odpychających poprzez zjonizowane hydrofilowe fragmenty swojej struktury, co prowadzi do powstania sił elektrostatycznych odpowiedzialnych za stabilność emulsji. Nowoczesne preparaty wzbogacone są także o α -tokoferol oraz oleinian sodu jako emulgator pomocniczy. Stabilność ET jest zależna od czynników wpływających na jonizację, w tym od wartości pH roztworu, przy czym szczególnie istotne są warunki kwasowe. Optymalna stabilność emulsji tłuszczowych występuje przy pH wynoszącym około 8, co często stanowi wartość produkcyjną dla większości ET. Jednakże podczas mieszania emulsji tłuszczowej z wodną fazą TPN pH obniża się ze względu na obecność glukozy i aminokwasów (AA), które wykazują właściwości kwasowe. Stabilność emulsji zależy również od końcowej lepkości mieszaniny – większa lepkość tworzy mechaniczną barierę stabilizującą fazę lipidową. Z kolei niskie stężenie glukozy oraz większe rozcieńczenie wodą mogą osłabiać stabilność emulsji, choć ich wpływ jest mniej znaczący niż zmiany pH. Rodzaj i stężenie aminokwasów odgrywają kluczową rolę w stabilizacji ET, ponieważ kwasowość roztworów AA prowadzi do obniżenia pH, co redukuje ochronne siły elektrostatyczne emulsji. Stopień destabilizacji zależy od rodzaju i stężenia AA – aminokwasy o charakterze kwasowym, takie jak kwas asparaginowy czy glutaminowy, obniżają napięcie powierzchniowe i destabilizują emulsję. Natomiast aminokwasy zasadowe mogą reagować z elektrolitami, wzmacniając barierę elektrostatyczną emulsji. Aby zoptymalizować stabilność ET, zaleca się utrzymanie stosunku aminokwasów zasadowych do kwasowych na poziomie poniżej 1,5. W przypadku

przekroczenia punktu izoelektrycznego AA generowany jest ujemny ładunek, który wzmacnia siły elektrostatyczne wspierające strukturę emulsji i poprawia jej stabilność. Istotnym czynnikiem wpływającym na stabilność ET jest również rodzaj triglicerydów zastosowanych w formule lipidowej. Emulsje zawierające zarówno triglicerydy o średnim (MCT), jak i długim łańcuchu (LCT) są preferowane nie tylko ze względów żywieniowych, ale także ze względu na większą stabilność w porównaniu do emulsji zawierających wyłącznie triglicerydy o długim łańcuchu. Dodatkowo obecność wysokich stężeń kationów jedno-, dwu- lub trójwartościowych w mieszaninie może neutralizować ujemne ładunki powierzchniowe emulsji lipidowej, co prowadzi do jej destabilizacji [2].

4. Woda

Woda w żywieniu pozajelitowym pełni nie tylko funkcję rozpuszczalnika dla pozostałych składników odżywczych, ale przede wszystkim jest istotnym elementem w utrzymaniu homeostazy wodno-elektrolitowej organizmu. W kontekście farmaceutycznym, jakość wody wykorzystywanej do preparatyki żywienia pozajelitowego musi spełniać rygorystyczne wymogi farmakopealne dla wody do wstrzykiwań (Aqua pro injectione), charakteryzując się jałowością, apirogennością oraz brakiem zanieczyszczeń mechanicznych. Objętość wody w mieszaninie determinuje osmolarność końcową preparatu, stabilność emulsji tłuszczowych oraz rozpuszczalność elektrolitów i biodostępność witamin oraz pierwiastków śladowych.

5. Elektrolity

Skuteczne prowadzenie żywienia pozajelitowego wymaga systematycznego monitorowania parametrów gospodarki elektrolitowej. Sód, jako główny kation zewnątrzkomórkowy, odpowiada za utrzymanie prawidłowego ciśnienia osmotycznego i gospodarki wodno-elektrolitowej [18]. Potas, będący dominującym kationem wewnątrzkomórkowym, jest niezbędny dla prawidłowego funkcjonowania komórek i transportu glukozy [18]. Magnez pełni rolę kofaktora w reakcjach enzymatycznych i jest kluczowy dla prawidłowego funkcjonowania układu nerwowego. Źródłem elektrolitów mogą być komponenty zawarte w roztworach aminokwasów oraz preparatach węglowodanowych, jednakże ich stężenie nie jest zazwyczaj wystarczające dla pokrycia dobowego zapotrzebowania. Dominującą formą suplementacji pozostają koncentraty monojonowe, wśród których wyróżniamy roztwory chlorku sodu o stężeniu 10%, chlorku potasu 15%, chlorku wapnia 10% oraz siarczanu magnezu 20%. Stężenia poszczególnych kationów i anionów mają istotny wpływ na stabilność roztworu, gdyż wysokie stężenia kationów w ŻP mogą powodować niestabilność lipidów, a tym samym mieszaniny pozajelitowej [17]. Jednowartościowe kationy, takie jak sód i potas, wykazują mniejszy wpływ na stabilność oraz zgodność układów w porównaniu

z kationami dwuwartościowymi. Proces wytrącania fosforanów wapnia (Ca-P) jest determinowany przez szereg czynników, w tym wartość pH, stężenie fosforanów, obecność glukozy oraz rodzaj i stężenie aminokwasów [2]. Utrzymanie niskiego pH w połączeniu z niskimi stężeniami wapnia i fosforanów ogranicza proces wytrącania oraz sprzyja zachowaniu prawidłowej rozpuszczalności. Istotne znaczenie mają również rodzaje stosowanych soli wapnia i fosforu – wykorzystanie soli organicznych wykazuje korzystny wpływ na stabilność rozpuszczalności tych związków. Kluczowym czynnikiem pozostaje także stosunek molowy wapnia do fosforanów, ponieważ wysoki stosunek Ca:P zwiększa ryzyko wytrącania osadów, podczas gdy podwyższone stężenia magnezu działają ochronnie, przeciwdziałając temu procesowi. W aspekcie związków organicznych, szczególne znaczenie kliniczne wykazują preparaty fosforanowe, w tym glicerofosforan sodu oraz glukozo-1-fosforan. Suplementacja wapnia realizowana jest również poprzez zastosowanie jego form organicznych, takich jak glukonian czy glubionian, charakteryzujących się korzystnym profilem biodostępności oraz stabilnością w mieszaninach do żywienia pozajelitowego.

6. Pierwiastki śladowe

Pierwiastki śladowe, mimo że stanowią zaledwie 0,01% masy ciała, są odpowiedzialne za utrzymanie homeostazy organizmu i prawidłowe funkcjonowanie procesów metabolicznych [19]. Ich suplementacja wymaga szczególnej uwagi ze względu na złożoność interakcji z innymi składnikami mieszaniny odżywczej oraz potencjalne konsekwencje kliniczne ich niedoboru [20]. Niektóre śladowe pierwiastki mogą tworzyć nierozpuszczalne sole, podczas gdy miedź może przyspieszać degradację witamin poprzez efekt katalityczny [17]. Współczesne standardy żywienia pozajelitowego zakładają włączenie suplementacji pierwiastków śladowych od pierwszego dnia leczenia. Preparaty zawierające pierwiastki śladowe dodawane są najczęściej w postaci gotowych mieszanin wieloskładnikowych, co ułatwia proces przygotowania mieszaniny żywieniowej, jednocześnie minimalizując ryzyko błędów w dawkowaniu [21]. Możliwe jest również, że dodatnio naładowane jony mogą odgrywać rolę w neutralizacji ujemnego ładunku emulsji lipidowej i powodować tym samym niestabilność całej mieszaniny pozajelitowej [2].

7. Witaminy

Suplementacja witamin w żywieniu pozajelitowym warunkuje prawidłowe funkcjonowanie procesów metabolicznych. Uwzględnienie witamin w protokole żywienia pozajelitowego wymaga dużej uwagi ze względu na ich labilność oraz potencjalne interakcje z pozostałymi komponentami mieszaniny odżywczej. Witaminy są najmniej stabilnymi składnikami odżywczymi w roztworach do żywienia pozajelitowego, z trzema głównymi ścieżkami

degradacji: fotodegradacją, utlenianiem i interakcją z materiałem do przechowywania. Minimalizacja czasu kontaktu poprzez dodawanie witamin do roztworów do żywienia pozajelitowego bezpośrednio przed użyciem może pomóc w zmniejszeniu wpływu na ich stabilność w mieszaninach TPN [2]. Witaminy rozpuszczalne w tłuszczach (A, D, E, K) wymagają obecności emulsji lipidowej dla optymalnej biodostępności, co wymusza konieczność odpowiedniego komponowania mieszanin żywieniowych. Witaminy hydrofilne, obejmujące kompleks witamin B oraz witaminę C, posiadają odmienną charakterystykę fizykochemiczną i wykazują stabilność w roztworach wodnych [22]. Uwagi wymaga stabilność witamin w mieszaninach do żywienia pozajelitowego, która determinowana jest przez szereg czynników fizykochemicznych, takich jak: pH środowiska, ekspozycja na promieniowanie świetlne, obecność pierwiastków śladowych oraz temperatura przechowywania, które wpływają na degradację witamin. Witamina A, D może wiązać się z materiałem opakowania i zestawem do infuzji. Witamina E jest stosunkowo stabilna w TPN. Pochodząca z soi witamina E jest bardziej stabilna niż pochodząca z innych roślin [17], ale ulega degradacji pod wpływem światła i w obecności tlenu. Inne witaminy, takie jak cyjanokobalamina, biotyna, kwas pantotenowy i nikotynamid, są uważane za stabilne w standardowych warunkach przechowywania, ale brak jest opublikowanych danych dotyczących ich kompatybilności [2]. W przypadku długotrwałego żywienia pozajelitowego niezbędne jest monitorowanie stężeń witamin w surowicy, ze szczególnym uwzględnieniem witamin A, D i E.

5.5. Stabilność fizykochemiczna mieszanin do żywienia pozajelitowego

Stabilność fizykochemiczna mieszanin do żywienia pozajelitowego stanowi złożone zagadnienie, które należy rozpatrywać w kontekście dwóch głównych faz z których składa się mieszanina pozajelitowa tj.: wodnej i olejowej. Zrozumienie procesów zachodzących w obu fazach jest kluczowe dla zapewnienia bezpieczeństwa i skuteczności terapii żywieniowej. Dużym wyzwaniem w ocenie stabilności fizykochemicznej domowych mieszanin pozajelitowych u dzieci jest potrzeba przeprowadzenia obszernych, znormalizowanych badań, które pozwolą opracować jednoznaczne wytyczne dotyczące przygotowywania i analizy stabilności TPN. Obecnie brak jest standaryzacji w zakresie metod analitycznych [7].

Niezgodności w mieszaninach do żywienia pozajelitowego definiuje się jako niepożądane oddziaływania zachodzące między poszczególnymi składnikami podczas przygotowania, przechowywania i podawania mieszaniny [23,24]. Można je podzielić na wizualne czyli

dostrzegalne gołym okiem lub pod mikroskopem oraz utajone czyli niedostrzegalne wizualnie, dotyczące głównie inaktywacji substancji czynnych. Faza wodna mieszanin do żywienia pozajelitowego jest szczególnie podatna na różnorodne interakcje fizykochemiczne. Najistotniejsze problemy dotyczą trzech głównych obszarów: precypitacji związków nieorganicznych, degradacji witamin oraz inaktywacji aminokwasów. Najbardziej krytycznym zjawiskiem w fazie wodnej jest wytrącanie się fosforanu wapnia. Proces ten jest silnie zależny od pH środowiska i może przebiegać dwutorowo. W środowisku zasadowym następuje natychmiastowe wytrącenie $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, podczas gdy w środowisku kwasowym obserwuje się powolne wytrącanie CaHPO_4 . Zwiększone ryzyko wytrącenia osadu istnieje przy wysokich stężeniach wapnia i fosforanów [23]. W celu zminimalizowania ryzyka formacji precypitatów CaHPO_4 , należy stosować organiczne związki wapnia i fosforu. Do rekomendowanych związków należą pochodne glicerofosforanowe, glukozo-1-fosforanowe oraz kompleksy glukonianowe [23,24,26]. Podając preparaty soli organicznych uzyskuje się większe graniczne stężenia niż w przypadku soli nieorganicznych, które przy niższych stężeniach łatwiej dysocjują [23,29]. W przypadku terapii żywieniowej noworodków i dzieci, gdzie występuje zwiększone zapotrzebowanie na suplementację wapniowo-fosforanową, protokoły kliniczne jednoznacznie wskazują na konieczność stosowania form organicznych [26]. Niskie stężenie glukozy oraz wysokie pH sprzyjają dodatkowo wytrącaniu osadu CaHPO_4 [26]. Natomiast dodatek 20% siarczanu magnezu (MgSO_4) zmniejsza ryzyko wytrącenia osadu ze względu na stabilizujące działanie. Jest to tzw. efekt solny, gdzie rozpuszczalność trudno rozpuszczalnej soli zwiększa się pod wpływem soli niemającej wspólnego jonu. Oznacza to, że jony magnezowe tworzą bardziej stabilne sole z jonami fosforanowymi [23].

Aby zapobiec tym niezgodnościom związanym z ryzykiem wytrącenia się fosforanu wapnia, należy przestrzegać następujących zasad:

1. Nie wolno dostrzykiwać do tego samego pojemnika preparatów wapnia i fosforanów nieorganicznych bez odpowiedniego rozcieńczenia.
2. Należy unikać przetaczania tym samym przewodem preparatów zawierających fosforany i wapń.
3. Konieczne jest zachowanie odpowiedniej kolejności dodawania składników.
4. Organiczne związki fosforanowe wykazują znacznie lepszą kompatybilność z jonami wapnia w porównaniu do ich nieorganicznych odpowiedników [27].

Głównym problemem wpływającym na skuteczność suplementacji witamin jest ich rozpad w mieszaninie odżywczej. Wyróżniamy kilka głównych przyczyn tego zjawiska:

1. Fotoliza

Niektóre witaminy ulegają rozpadowi pod wpływem światła, szczególnie ultrafioletowego. Dotyczy to witaminy B₂ (ryboflawiny), witaminy A (retinolu) i witaminy K [23,24,30,31]. Co ciekawe, sama ryboflawina pod wpływem światła może przyspieszać rozpad innych składników mieszaniny, takich jak witamina C, niektóre aminokwasy czy tłuszcze [23,31,32].

2. Adsorpcja na powierzchni opakowania lub aparatu do przetoczeń Witamina A ma szczególną tendencję do przylegania do ścianek pojemników i przewodów do przetaczania [23]. Problem jest najbardziej widoczny w przypadku opakowań z PCV, gdzie straty mogą sięgać nawet 90%.

3. Redukcja

Witamina B₁ (tiamina) ulega rozpadowi w obecności niektórych aminokwasów zawierających siarkę. Problem ten był szczególnie istotny, gdy w roztworach aminokwasów stosowano przeciwutleniacz w postaci metabisiarczynu sodu [23,30,31].

4. Utlenianie

Witamina C jest najbardziej wrażliwa na rozpad w mieszaninie odżywczej [30,31]. Jej stabilność znacząco spada w wysokiej temperaturze i w obecności tlenu [24,30,31,32]. Dodatkowo, rozpad witaminy C przyspiesza obecność metali, szczególnie miedzi [23,30], a także żelaza, cynku i manganu.

Dla zminimalizowania degradacji witamin należy:

1. Dodawać witaminy do mieszaniny żywieniowej bezpośrednio przed podaniem.
2. Zaleca się by zarówno witaminy rozpuszczalne w wodzie jak i w tłuszczach dodawać do emulsji tłuszczowej ze względu na ochronny wpływ emulsji tłuszczowej na zmniejszenie degradacji witamin.
3. Chronić mieszaniny przed światłem podczas wlewu.
4. Podłączyć mieszaninę pacjentowi w możliwie najkrótszym czasie po przygotowaniu.

W kontekście zachowania stabilności aminokwasów w mieszaninach typu AIO ważną rolę odgrywają parametry środowiskowe związane z warunkami przechowywania. Ekspozycja na czynniki atmosferyczne, tlen, światło oraz fluktuacje temperaturowe wykazują wyraźnie destrukcyjny wpływ na stabilność tych związków. Na szczególną uwagę zasługują aminokwasy siarkowe oraz heterocykliczne, takie jak cysteina, metionina i tryptofan, które charakteryzują się wyjątkową wrażliwością na wymienione czynniki środowiskowe. W warunkach podwyższonej temperatury może dochodzić do inicjacji reakcji między grupami funkcyjnymi aminokwasów a cząsteczkami glukozy, szczególnie w środowisku o wysokim stężeniu węglowodanów. Jest to tak zwana reakcja Maillarda, która objawia się

zmianą barwy roztworu [24,33]. Proces ten dotyczy przede wszystkim aminokwasów zasadowych, w tym lizyny, histydyny oraz cysteiny [24,29]. Kinetyka tej reakcji jest modulowana nie tylko przez temperaturę, ale również przez skład jakościowy aminokwasów oraz obecność jonów w roztworze. Produkty powstające w wyniku opisanych przemian chemicznych mogą wykazywać właściwości immunogenne oraz potencjał toksyczny [24]. Z tego względu, jakakolwiek zmiana barwy preparatu żywieniowego stanowi bezwzględne przeciwwskazanie do jego podania.

Stabilność fazy olejowej koncentruje się głównie wokół dwóch kluczowych zagadnień: stabilności emulsji lipidowej oraz procesów peroksydacji lipidów.

Stabilność emulsji tłuszczowej jest kluczowa dla stabilności mieszaniny pozajelitowej i bezpieczeństwa pacjenta żywionego parenteralnie. Niestabilność ET może prowadzić do poważnych konsekwencji klinicznych, takich jak zatorowość tłuszczowa [7]. Preparaty lipidowe przeznaczone do podaży dożylniej reprezentują układy dyspersyjne typu olej w wodzie, charakteryzujące się ściśle określonymi parametrami fizykochemicznymi, w tym wąskim zakresem pH oraz niską osmolarnością. Strukturalnie, preparaty te tworzą układy koloidalne o morfologii sferycznej, wykazujące analogię do naturalnych chylomikronów występujących w układzie limfatycznym [24]. Dopuszczalny zakres wielkości cząstek dla preparatów pozajelitowych to 3 μm . Przekroczenie wartości progowej 5 μm stanowi absolutne przeciwwskazanie do podania. Integralność strukturalna miceli jest determinowana przez obecność fosfolipidów na ich powierzchni, generujących ujemny potencjał elektrokinetyczny. Kluczowym parametrem określającym stabilność układu jest potencjał zeta, reprezentujący siły elektrostatyczne przeciwdziałające agregacji spowodowanej siłami van der Waalsa, które powodują przyciąganie, fuzję kropli, koalescencję i ostateczne rozdzielanie faz emulsji. Niewielkie zmiany w mikrośrodowisku mieszaniny do ŻP spowodowane różnymi składnikami wchodzącymi w skład TPN mogą zaburzyć tę równowagę. W ten sposób może dojść do procesu destabilizacji w wyniku agregacji cząsteczek tłuszczowych [7]. Szczególne zagrożenie dla stabilności układu stanowią kationy wielowartościowe, których obecność prowadzi do neutralizacji ładunku powierzchniowego i inicjacji procesów agregacyjnych. Pierwotnym objawem destabilizacji jest proces śmietankowania, gdzie agregaty tłuszczowe mogą przemieszczać się w górę ze względu na mniejszą gęstość tworząc tak zwany wygląd kremowy [7]. Na tym etapie proces pozostaje odwracalny poprzez delikatną homogenizację. Kolejny etap destabilizacji emulsji czyli koalescencja reprezentuje już nieodwracalny etap degradacji, charakteryzujący się całkowitą utratą stabilności elektrostatycznej i formacją makroskopowych agregatów, prowadzącą do separacji fazowej. Od wielu lat podstawowym

wskaźnikiem stabilności jest krytyczna liczba agregacji (CAN), definiowana jako graniczne stężenie elektrolitów inicjujące proces agregacji [24], która nie powinna przekraczać 600 [24,34].

Wartość ta obliczana jest według wzoru:

$$\text{CAN} = a + 64b + 729c$$

gdzie:

a - stężenie jonów jednowartościowych [mmol/l]

b - stężenie jonów dwuwartościowych [mmol/l]

c - stężenie jonów trójwartościowych [mmol/l]

Stabilność układów emulsyjnych stosowanych w terapii parenteralnej wykazuje silną zależność od stężenia jonów wodorowych w środowisku. Podczas długotrwałego przechowywania mieszanin obserwuje się postępujący proces hydrolizy składników tłuszczowych, który prowadzi do systematycznego obniżania wartości pH środowiska. Zjawisko to ulega znaczącej intensyfikacji w obecności komponentów o charakterze kwasowym, szczególnie w przypadku wprowadzenia roztworów glukozy do układu. W kontekście zachowania stabilności emulsji tłuszczowych, szczególnie istotną rolę odgrywają aminokwasy, które wykazują złożone działanie protekcyjne realizowane poprzez różnorodne mechanizmy. Pierwszym z nich jest zdolność do buforowania środowiska, co pozwala na neutralizację niekorzystnych zmian pH wywołanych obecnością glukozy. Ponadto, aminokwasy wykazują zdolność do tworzenia kompleksów z jonami metali, efektywnie zmniejszając pulę wolnych jonów w układzie, które mogłyby destabilizować emulsję [7]. Kolejnym istotnym aspektem działania aminokwasów jest ich wpływ na stabilność elektrostatyczną układu. Poprzez interakcję z powierzchnią miceli, aminokwasy zapobiegają neutralizacji ujemnego ładunku powierzchniowego, co jest kluczowe dla zachowania stabilności całego układu. Dodatkowo, obecność aminokwasów przyczynia się do wzmocnienia bariery mechanicznej między cząsteczkami emulsji, skutecznie hamując procesy agregacji kropeł tłuszczowych. Szczególnie interesującym aspektem jest zróżnicowana efektywność stabilizacyjna poszczególnych typów aminokwasów. Aminokwasy o charakterze zasadowym, takie jak arginina, histydyna czy lizyna, wykazują wyższą skuteczność w stabilizacji emulsji w porównaniu z ich kwasowymi odpowiednikami. Zjawisko to można wytłumaczyć występowaniem korzystnych oddziaływań jonowych między ujemnie naładowanymi micelami a dodatnio naładowanymi grupami funkcyjnymi aminokwasów zasadowych.

Proces oksydacji lipidów stanowi złożoną kaskadę reakcji chemicznych, inicjowaną przez reaktywne formy tlenu, prowadzącą do formacji hydronadtlenków lipidowych [17]. Te niestabilne związki pośrednie ulegają następnie transformacji do szeregu metabolitów wtórnych, obejmujących związki karbonylowe tj. aldehydy, w tym dialdehyd malonowy, związki epoksydowe oraz węglowodory. Szczególną wrażliwość na procesy oksydacyjne wykazują wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA), co wynika z obecności labilnych wiązań nienasyconych w ich strukturze molekularnej. Kinetyka procesu oksydacji ulega znaczącemu przyspieszeniu w obecności tlenu molekularnego, podwyższonej temperatury oraz ekspozycji na promieniowanie świetlne, szczególnie w obecności fotowzбудzonej ryboflawiny [32]. Dodatkowo, jony metali przejściowych, zwłaszcza żelaza i miedzi, wykazują działanie katalityczne w reakcjach oksydacyjnych. System antyoksydacyjny, obejmujący kwas askorbowy, α -tokoferol oraz pierwiastki śladowe (cynk, selen) spowalniają procesy peroksydacji [32]. Kluczowym inicjatorem degradacji oksydacyjnej jest tlen dostający się do mieszaniny podczas jej sporządzania. Z tego powodu należy po sporządzeniu mieszaniny jak najszybciej odpowietrzyć worek [31,32]. Przepuszczalność tlenu przez materiał opakowania to także istotny czynnik. Konwencjonalne materiały, jak etylowinylooctan (EVA), charakteryzują się znaczącą przepuszczalnością tlenową. Alternatywę stanowią zaawansowane materiały wielowarstwowe o zredukowanej przenikalności gazowej [23,32]. Proces peroksydacji lipidów jest szczególnie istotny w przypadku emulsji zawierających kwasy tłuszczowe ω -3 [35]. Główne czynniki inicjujące ten proces to ekspozycja na światło, obecność tlenu oraz jonów metali (szczególnie żelaza i miedzi) i podwyższona temperatura. Światło stosowane do fototerapii noworodków powoduje powstanie około 2-krotnie większej ilości produktów peroksydacji niż światło dzienne [37,38]. Szczególnie wrażliwe są wcześniaki, które są narażone na stres oksydacyjny związany z tlenoterapią, fototerapią i osłabionym układem odpornościowym. Zapobieganie peroksydacji wymaga:

1. Odpowiedniej techniki sporządzania mieszanin.
2. Właściwej kolejności dodawania składników.
3. Obniżonej temperatury przechowywania.
4. Ochrony przed światłem [35,37].
5. Stosowania wielowarstwowych worków lub worków dwukomorowych [39].

Odpowiednia technika sporządzania stabilnych mieszanin pozajelitowych to w głównej mierze należyte mieszanie ze sobą makro i mikroelementów w odpowiedniej kolejności tj.:

1. Glukoza + fosforany
2. Aminokwasy + magnez + pierwiastki śladowe
3. Woda + wapń
4. Emulsja tłuszczowa
5. Witaminy

Dodatkowo należy przestrzegać kilku istotnych zasad, tj.:

1. Stosować filtry 1,2 μm .
2. Chronić mieszaniny przed światłem.
3. Przechowywać w odpowiedniej temperaturze.
4. Minimalizować kontakt z tlenem.

5.6. Stabilność mikrobiologiczna mieszanin do żywienia pozajelitowego

Stabilność mikrobiologiczna mieszanin do żywienia pozajelitowego stanowi kluczowy aspekt bezpieczeństwa terapii żywieniowej ponieważ determinuje okres przydatności do użycia mieszanin pozajelitowych. Zachowanie jałowości preparatów przez cały okres ich przechowywania i podawania jest niezbędne dla zapewnienia skuteczności leczenia oraz ochrony pacjenta przed powikłaniami infekcyjnymi [40,41]. Na stabilność mikrobiologiczną mieszanin do żywienia pozajelitowego wpływają zarówno czynniki zewnętrzne, jak i wewnętrzne. Do najważniejszych czynników zewnętrznych należą warunki przygotowania preparatu, kwalifikacje personelu oraz procedury aseptyczne dotyczące mycia i dezynfekcji [40,52]. Stabilność mikrobiologiczna mieszanin do żywienia pozajelitowego jest ściśle uzależniona od warunków ich przygotowywania [52]. Pomieszczenia przeznaczone do sporządzania tych preparatów muszą stanowić zamknięty, wyizolowany kompleks, spełniający rygorystyczne wymagania dotyczące czystości mikrobiologicznej i kontroli środowiska [42]. System barier w postaci śluz, kontrolowana wymiana powietrza oraz rygorystyczne procedury czyszczenia i dezynfekcji minimalizują ryzyko kontaminacji mikrobiologicznej podczas procesu przygotowywania mieszanin [42,43]. Kompleks pomieszczeń czystych składa się z kilku stref o różnym przeznaczeniu i klasie czystości. W jego skład wchodzi: boks aseptyczny, śluzy osobowe i materiałowe, magazyny produktów leczniczych i wyrobów medycznych, magazyn gotowego produktu oraz pomieszczenia administracyjne [42,44]. Pomieszczenia czyste charakteryzują się specjalnymi wymaganiami konstrukcyjnymi. Ściany, podłogi i sufity muszą mieć gładkie powierzchnie, łatwe do czyszczenia i dezynfekcji [42,43]. Połączenia między ścianami a podłogą są zaokrąglone, co

ułatwia utrzymanie czystości. Kluczowym elementem jest system wentylacji zapewniający odpowiednią klasę czystości powietrza. W pomieszczeniach aseptycznych wymagana jest 20-krotna wymiana powietrza na godzinę. Temperatura powinna być utrzymywana w zakresie 18-23°C, a wilgotność względna na poziomie 50% ± 10%. System musi zapewniać utrzymanie nadciśnienia, z różnicą ciśnień między pomieszczeniami wynoszącą 10-15 Pa. Sporządzanie mieszanin pozajelitowych przeprowadza się w klasie A, o najbardziej rygorystycznych wymaganiach co do czystości powietrza [44,45]. Łoża do pracy aseptycznej (klasa A) musi znajdować się w boksie aseptycznym (klasa B) [41,47]. W strefie A łoża laminarnej wymagana jest najwyższa klasa czystości, a przepływ laminarny powietrza musi mieć prędkość 0,36-0,54 m/s. W strefach czystych nie mogą znajdować się otwierane okna, grzejniki ani zlewy. Kontrola obszarów czystych obejmuje zanieczyszczenia cząstkami nierozpuszczalnymi (Tabela 1) oraz zanieczyszczenie mikrobiologiczne (Tabela 2). Klasyfikację pomieszczeń, ze względu na czystość powietrza, przeprowadza się w stanie w spoczynku, gdy personel nie jest obecny w pomieszczeniu, a urządzenia są zainstalowane i gotowe do pracy oraz w działaniu, gdy urządzenia działają i są obsługiwane przez pracowników.

Tabela 1. Wartości graniczne w monitoringu fizycznym obszarów czystych [48]

Klasa	Maksymalna dopuszczalna liczba cząstek/m ³ , o wymiarze równym lub większym niż podano w tabeli			
	w spoczynku		w działaniu	
	0,5 µm	5,0 µm	0,5 µm	5,0 µm
A	3 520	20	3 520	20
B	3 520	29	352 000	2 900
C	352 000	2 900	3 520 000	29 000
D	3 520 000	29 000	nieokreślona	nieokreślona

Tabela 2. Wartości graniczne w monitoringu mikrobiologicznym obszarów czystych „w działaniu” (CFU - ang. colony forming units, liczba jednostek tworzących kolonie) [48]

Klasa	Próbka powietrza (CFU/m ³)	Płytki sedymentacyjne o średnicy 90 mm (CFU/4 h)	Płytki odciskowe o średnicy 55 mm (CFU/płytkę)	Odciski palców dłoń w rękawicy z pięcioma palcami (CFU/rękawicę)
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

Stabilność mikrobiologiczna mieszanin do żywienia pozajelitowego jest zależna od kompetencji i postępowania personelu zaangażowanego w proces ich sporządzania. Ryzyko kontaminacji mikrobiologicznej jest bezpośrednio skorelowane z kwalifikacjami personelu oraz przestrzeganiem procedur aseptycznych. Wszyscy członkowie zespołu, włączając personel fachowy, pomocniczy oraz zajmujący się utrzymaniem czystości, powinni wykazywać się dogłębną znajomością zasad Dobrej Praktyki Wytwarzania oraz procedur zapewnienia jakości, ze szczególnym uwzględnieniem protokołów higienicznych obowiązujących w pracowni żywienia pozajelitowego. Przed rozpoczęciem mycia w każdym pomieszczeniu należy najpierw opróżnić kosze na śmieci, aby uniknąć emisji cząstek po przeprowadzonym procesie higieny [49]. Następnie wszystkie powierzchnie są myte jałową wodą z detergentem i dezynfekowane odpowiednim środkiem np. 70% alkoholem, który nie pozostawia śladów. W najczystszych strefach (klasy A i B) wszystkie środki czyszczące i dezynfekujące muszą być sterylne [48]. Wykazano, że stabilność mikrobiologiczna jest zachowana przez dłuższy czas w mieszaninach o niższym pH (około 5,5) oraz zawierających pierwiastki śladowe, zwłaszcza jony cynku. Wyższa osmolarność roztworu również spowalnia rozwój mikroorganizmów [50].

Kontrola jakości mikrobiologicznej mieszanin do żywienia pozajelitowego obejmuje szereg badań, które muszą być regularnie przeprowadzane. Szczególnie istotne są testy jałowości wykonywane metodą filtracji membranowej lub bezpośredniego przeniesienia na podłoże hodowlane [52,51]. Badania należy przeprowadzać systematycznie, zgodnie z wytycznymi zawartymi w Farmaceutycznych Standardach Żywienia Klinicznego oraz FP [46]. Okresowo należy przeprowadzać testy symulacyjne procesu aseptycznego czyli test media-fill. Wyniki tych badań służą do walidacji procesu wytwarzania i określenia terminu ważności preparatów

[40,52]. Farmakopea Polska określa stabilność mieszanin pozajelitowych pod warunkiem zachowania stabilności fizykochemicznej w zależności od warunków przechowywania. Preparaty o średnim ryzyku to między innymi mieszaniny do żywienia pozajelitowego przygotowywane przez przetwarzanie jałowych leków gotowych w bardziej złożonym procesie z użyciem wielu składników oraz w obszarze klasy czystości A.

Tabela 3. Stabilność mikrobiologiczna pod warunkiem zachowania stabilności fizykochemicznej FP [46]

Warunki przechowywania:	Preparaty o niższym ryzyku	Preparaty o średnim ryzyku	Preparaty o wysokim ryzyku
Kontrolowana temperatura pokojowa	48 godzin	30 godzin	24 godziny
Lodówka 2-8 ⁰ C	14 dni	9 dni	3 dni
Zamrażarka -10 ⁰ C do -25 ⁰ C	45 dni	45 dni	45 dni

Mieszaniny do żywienia pozajelitowego stanowią doskonałą pożywkę dla drobnoustrojów, szczególnie w temperaturze pokojowej. W temperaturze 2-8⁰C wzrost mikroorganizmów ulega znaczącemu zahamowaniu [40,50]. Z tego powodu gotowe mieszaniny należy przechowywać w lodówce w temperaturze 2-8⁰C, a czas wlewu nie powinien przekraczać 24 godzin. Regularne monitorowanie czystości mikrobiologicznej oraz walidacja procesów aseptycznych pozwalają na wczesne wykrycie potencjalnych zagrożeń [40,52]. W procesie kontroli stabilności mikrobiologicznej mieszaniny do żywienia pozajelitowego ważne jest precyzyjne zdefiniowanie serii produkcyjnej. W zależności od specyfiki mieszaniny żywieniowej, pojedynczy worek o unikalnym składzie może stanowić odrębną serię [53]. Alternatywnie, grupa worków o identycznym składzie może być traktowana jako jedna seria przy przeprowadzaniu badań stabilności. Worki sporządzone w jednakowych warunkach przez ten sam personel mogą być uznane za jedną serię produkcyjną. Proces pobierania próbek do badań musi być realizowany zgodnie ze ściśle określonymi procedurami pisemnymi, zapewniającymi reprezentatywność próbek dla całej serii. Do kontroli jałowości należy przeznaczyć minimum jeden worek, zazwyczaj ostatni z serii produkcyjnej [53]. Istotne jest, aby próbki kontrolne były przechowywane w warunkach identycznych jak

właściwe mieszaniny do żywienia pozajelitowego, aż do momentu uzyskania kompletnych wyników badań mikrobiologicznych i muszą one podlegać systematycznemu monitorowaniu.

5.7. Zintegrowany system zarządzania jakością jako strategiczny element w przygotowywaniu stabilnych mieszanin pozajelitowych

W dobie nowoczesnej medycyny apteka szpitalna, będąca podstawowym elementem struktury każdego szpitala, pełni kluczową rolę w zapewnieniu bezpiecznej farmakoterapii oraz racjonalnej gospodarki lekiem. Jednym z najbardziej wymagających obszarów jej działalności jest przygotowywanie mieszanin pozajelitowych, które stosuje się w terapii żywieniowej pacjentów w różnych stanach klinicznych. Sporządzanie tych złożonych preparatów wymaga wdrożenia kompleksowego systemu zarządzania jakością, którego celem jest zagwarantowanie bezpieczeństwa, skuteczności i stabilności terapii żywieniowej.

Działalność apteki w zakresie przygotowywania TPN jest ściśle regulowana przez przepisy prawa. Zgodnie z ustawą o zawodzie farmaceuty z dnia 10 grudnia 2020 r. (Dz.U. 2021 poz. 97) [25] sporządzanie leków recepturowych i aptecznych, w tym preparatów do żywienia pozajelitowego, należy wyłącznie do kompetencji farmaceutów. Proces ten musi spełniać najwyższe standardy jakości, implementując zasady Dobrych Praktyk Wytwarzania (Good Manufacturing Practices — GMP) [36], które stanowią integralną część systemu zapewnienia jakości. GMP gwarantuje powtarzalność procesów, poprawność sporządzania oraz zgodność produktów z ustalonymi normami.

Rozwój farmacji szpitalnej wymaga inwestycji w infrastrukturę, szkolenia personelu oraz implementacji nowoczesnych systemów zarządzania jakością. Zintegrowany system zarządzania jakością jest kluczowy dla zapewnienia pacjentom stabilnych i skutecznych mieszanin. Opisane poniżej etapy przygotowywania i zarządzania TPN wymagają ścisłych procedur, a ich realizacja przekłada się na bezpieczeństwo pacjenta na każdym etapie terapii:

1. Zlecenie

Pierwszym etapem procesu jest zlecenie, które musi być precyzyjnie dostosowane do potrzeb pacjenta. Dokumentacja zlecenia lekarskiego powinna uwzględniać dane dotyczące klinicznych potrzeb żywieniowych oraz charakterystyki pacjenta. Przygotowanie zlecenia powinno odbywać się za pomocą systemu komputerowego z wewnętrznymi algorytmami weryfikacji, które wykrywają potencjalne niezgodności między składnikami [56]. Elektroniczna dokumentacja wspiera precyzyjne obliczenie stężeń i proporcji składników. Następnie dokumentacja trafia do farmaceuty, który odpowiada za jej zatwierdzenie.

2. Ocena zlecenia

Ocena zlecenia to kluczowy etap zarządzania jakością. Farmaceuta, bazując na dostępnych danych, ocenia zgodność fizykochemiczną składników, takich jak źródła białka (aminokwasy), elektrolity, mikroelementy oraz emulsje lipidowe. Uwagę zwraca się na potencjalne ryzyko wytrącania osadów, szczególnie w przypadku fosforanu wapnia oraz stabilność emulsji lipidowych w mieszaninach trójskładnikowych [56]. Potwierdzenie zgodności odbywa się na podstawie publikowanych danych naukowych, dokumentacji producenta oraz krzywych rozpuszczalności dla składników. Podczas oceny uwzględnia się również specyficzne ograniczenia, takie jak stabilność witamin czy tolerancja mieszanin na światło i temperaturę. W przypadku znalezienia niezgodności farmaceuta konsultuje zmiany z lekarzem przepisującym receptę.

3. Sporządzanie mieszaniny pozajelitowej

Proces przygotowywania TPN odbywa się w aptece szpitalnej, w warunkach spełniających standardy GMP. Użycie zautomatyzowanych urządzeń (ACD – Automated Compounding Devices) minimalizuje ryzyko błędów podczas mieszania składników [56]. Ważnym elementem jest sekwencja dodawania składników — w szczególności oddzielne dodawanie wapnia i fosforanu, aby zminimalizować ryzyko wytrącania osadu. Wielokrotnie stosuje się worki wielowarstwowe, które zmniejszają ekspozycję mieszaniny na światło i tlen. Farmaceuci i technicy farmaceutyczni muszą monitorować parametry fizykochemiczne, takie jak pH czy kompatybilność elektrolitów, a także stabilność końcowego produktu. Po sporządzeniu każda mieszanina jest poddawana ocenie wizualnej, aby wykryć oznaki destabilizacji emulsji, takie jak rozwarstwianie się tłuszczów.

4. Dodawanie leków i witamin

Dodawanie leków lub witamin wymaga szczególnej ostrożności. Dane dotyczące kompatybilności muszą pochodzić z badań potwierdzających brak niepożądanych interakcji chemicznych. Stężenie każdego preparatu oraz czas przechowywania mieszaniny są kluczowe dla jej stabilności. W przypadku braku wystarczających danych dotyczących danej kombinacji składników zaleca się ich oddzielne podawanie [56].

5. Podłączanie mieszaniny pozajelitowej oraz jej podawanie pacjentowi

Podłączenie TPN do systemu infuzyjnego to ważny moment w procesie, wymagający szczególnej uwagi. Przed rozpoczęciem infuzji każda mieszanina powinna być dokładnie sprawdzona pod kątem widocznych niezgodności takich jak osady, zmiana koloru lub rozwarstwienie emulsji. Zastosowanie filtrów infuzyjnych (np. filtrów 1,2 μm) dodatkowo chroni pacjenta przed wprowadzeniem cząstek stałych do krwiobiegu. Podczas przetaczania

mieszaniny pozajelitowej należy także unikać równoczesnego podawania leków przez to samo wejście, o ile nie ma danych dotyczących ich zgodności z TPN.

6. Edukacja personelu medycznego i opiekunów

Ostatnim etapem kompleksowego procesu zarządzania jakością jest edukacja personelu medycznego, rodziców i opiekunów. Techniki aseptycznego postępowania, odpowiednie przechowywanie mieszanin, ochrona przed światłem oraz właściwa konfiguracja infuzyjna powinny być regularnie omawiane na szkoleniach [56]. W warunkach domowych pacjent lub jego opiekunowie muszą znać metody dodawania leków i składników. Cykliczne szkolenia i oceny kompetencji personelu są kluczowe dla zapewnienia najwyższego poziomu jakości terapii. Przygotowywanie mieszanin pozajelitowych, które są lekami jałowymi, stanowi podstawowy element pracy farmaceuty w środowisku szpitalnym. Proces ten wymaga nie tylko precyzji i znajomości zasad aseptyki, ale także odpowiedniego przygotowania edukacyjnego personelu farmaceutycznego. W obliczu rosnących wymagań dotyczących jakości i bezpieczeństwa leków, edukacja w tym zakresie jest priorytetem zarówno dla instytucji edukacyjnych, jak i placówek medycznych [57]. Receptura farmaceutyczna od zawsze była integralną częścią zawodu farmaceuty. W czasach, gdy firmy farmaceutyczne nie produkowały gotowych leków, praktyka farmacji opierała się na indywidualnym przygotowywaniu preparatów. Obecnie, mimo rozwoju przemysłu farmaceutycznego, umiejętność sporządzania mieszanin pozajelitowych pozostaje kluczowa dla zapewnienia bezpieczeństwa terapii. Zgodnie z definicją Amerykańskiej Agencji Żywności i Leków (FDA), receptura to proces, w którym farmaceuta, lekarz lub osoba nadzorowana przez licencjonowanego farmaceutę łączy, miesza lub zmienia składniki leku, aby stworzyć preparat dostosowany do potrzeb konkretnego pacjenta. Farmakopea Stanów Zjednoczonych, która określa standardy jakości leków, definiuje recepturę jako przygotowywanie, mieszanie, zestawianie, zmienianie, pakowanie i etykietowanie leku zgodnie z receptą wystawioną przez licencjonowanego praktyka [58]. Obie instytucje podkreślają główny cel receptury jako dostosowanie leku do indywidualnych potrzeb pacjenta. W szpitalach farmaceuci są odpowiedzialni za aseptyczne przygotowywanie roztworów dożylnych w dużych i małych objętościach, rozcieńczanie leków oraz pakowanie sterylnych preparatów. Te zadania wymagają nie tylko wiedzy teoretycznej, ale także praktycznych umiejętności związanych z przestrzeganiem zasad aseptyki i higieny. Ostatnie badania podkreślają konieczność utrzymania i rozwijania tych umiejętności w praktyce farmaceutycznej na całym świecie [57]. Edukacja personelu farmaceutycznego powinna obejmować zarówno teoretyczne podstawy aseptyki – takie jak zrozumienie zasad sterylności czy metod eliminacji kontaminacji – jak

i praktyczne szkolenia w warunkach symulacyjnych z wykorzystaniem sprzętu laboratoryjnego stosowanego w rzeczywistych procesach przygotowywania leków jałowych. Regularna ocena kompetencji poprzez testy i symulacje oraz aktualizacja wiedzy zgodnie z najnowszymi wytycznymi i technologiami są kluczowe dla skuteczności programu edukacyjnego.

Zarządzanie jakością mieszanin pozajelitowych to wielostopniowy proces, który obejmuje różnorodne aspekty — od właściwego zlecenia przez ocenę, sporządzenie, dodawanie składników, podłączenie mieszaniny, aż po edukację personelu i opiekunów. Implementacja kompleksowego systemu zarządzania jakością, opartego na procedurach i zasadach Dobrych Praktyk Wytwarzania, pozwala minimalizować ryzyko błędów, zapewniając pacjentom skuteczną oraz bezpieczną terapię żywieniową. Postęp w farmacji szpitalnej oraz nowe wyzwania, takie jak niedobory leków czy wprowadzenie innowacyjnych rozwiązań, wymagają ciągłego doskonalenia oraz interdyscyplinarnej współpracy. Dzięki temu możliwe jest spełnienie najwyższych standardów opieki nad pacjentami wymagającymi żywienia pozajelitowego.

Bezpieczeństwo fizykochemiczne i mikrobiologiczne mieszanin pozajelitowych stosowanych w domowym żywieniu pozajelitowym u dzieci jest istotnym zagadnieniem o znaczeniu zarówno dla praktyki klinicznej, jak i zdrowia pacjentów pediatrycznych. W ostatnich latach obserwuje się wzrost liczby dzieci wymagających długoterminowego żywienia pozajelitowego, co wynika z postępu medycyny oraz możliwości leczenia coraz bardziej skomplikowanych przypadków. Jednakże, mimo rosnącego zapotrzebowania na tego typu terapie, wciąż istnieje wiele wyzwań związanych z zapewnieniem ich bezpieczeństwa i skuteczności. Decyzja o podjęciu przeze mnie badań nad stabilnością i bezpieczeństwem mieszanin pozajelitowych wynika z kilku istotnych przesłanek. Po pierwsze, istnieje pilna potrzeba ustanowienia nowych parametrów zdolnych do przewidywania stabilności mieszanin pozajelitowych TPN w jednym worku, które mogłyby być stosowane w codziennej praktyce szpitalnej. Obecnie brak jest narzędzi umożliwiających precyzyjną ocenę stabilności tych mieszanin, co prowadzi do niejednoznaczności w interpretacji wyników badań oraz potencjalnych zagrożeń dla pacjentów. Po drugie, ograniczenia techniczne w szpitalnych pracowniach żywienia pozajelitowego dodatkowo utrudniają prowadzenie systematycznych analiz. Brak standaryzacji w zakresie metod analitycznych, składu mieszanin oraz warunków przechowywania sprawia, że porównywanie wyników badań jest niezwykle trudne. Konieczne są zatem nowe, kompleksowe badania, które pozwolą na opracowanie spójnych

standardów i wytycznych. Po trzecie, przegląd dostępnej literatury wskazuje na brak jednolitych metod oceny stabilności mieszanin pozajelitowych. Dotychczasowe badania koncentrują się na różnych aspektach, od wielkości cząstek mieszanin pozajelitowych i mediany średnicy cząstek emulsji tłuszczowych, przez badania lepkości, aż po pomiar sił elektrostatycznych w mieszaninach pozajelitowych. Brak jest jednoznacznych wytycznych określających, jakie parametry powinny być badane oraz jakie kryteria powinny być spełnione. Aktualnie wykorzystywany parametr teoretyczny CAN do oceny stabilności jest prosty w zastosowaniu, ponieważ opiera się wyłącznie na stężeniu kationów w roztworze. Jednakże pomija on inne istotne czynniki, takie jak pH czy siły elektrostatyczne w mieszaninie, które odgrywają kluczową rolę w stabilności emulsji lipidowych. Pominięcie tych czynników może prowadzić do błędnych ocen stabilności – zarówno przeszacowania, jak i niedoszacowania ich stabilności. Dodatkowo, obecnie brakuje narzędzi pozwalających na precyzyjne przewidywanie stabilności mieszanin pozajelitowych w warunkach rzeczywistych. W praktyce szpitalnej przydatne byłoby opracowanie prostszych parametrów prognostycznych stabilności, które mogłyby być rutynowo stosowane przez personel medyczny. Pomimo nielicznych doniesień naukowych dotyczących różnych aspektów stabilności mieszanin pozajelitowych, nadal brakuje jednoznacznych wytycznych dotyczących ich przygotowywania i analizy. Na przykład Farmakopea Stanów Zjednoczonych (USP) proponuje metody oceny rozkładu wielkości cząstek tłuszczowych w emulsjach lipidowych (MDD oraz PFAT5) [59], jednakże te metody nie są uniwersalnie stosowane ani dostosowane do specyfiki pediatrycznej. W literaturze naukowej dominują badania polegające na modyfikacji składu próbek i ich przechowywaniu w różnych warunkach. Tymczasem rzeczywiste mieszaniny pozajelitowe stosowane u pacjentów pediatrycznych charakteryzują się dużą zmiennością składu oraz specyficznymi wymaganiami wynikającymi z małych objętości preparatów i wysokiego zapotrzebowania na elektrolity. W mojej pracy doktorskiej planuję skupić się na analizie rzeczywistych składowych mieszanin stosowanych u pacjentów pediatrycznych bez dokonywania modyfikacji ich składu. Stabilność fizykochemiczna i mikrobiologiczna mieszanin pozajelitowych ma kluczowe znaczenie dla bezpieczeństwa pacjentów. Niestabilność mieszanin TPN może wynikać z wielu czynników – od właściwości makro- i mikroskładników po warunki przechowywania (czas, temperatura, światło). Dodatkowo interakcje pomiędzy składnikami mieszaniny mogą prowadzić do nieprzewidywalnych efektów końcowych. Moja praca doktorska ma na celu wniesienie wkładu w rozwój tej dziedziny poprzez analizę rzeczywistych mieszanin TPN stosowanych u dzieci oraz identyfikację czynników wpływających na ich stabilność i bezpieczeństwo.

6. Założenia i cele pracy

6.1. Cel główny

Celem głównym pracy była ocena możliwości wydłużenia okresu ważności mieszanin do żywienia pozajelitowego przygotowywanych w IPCZD dla pacjentów domowych z 7 dni do 15 dni poprzez analizę stabilności parametrów fizykochemicznych laboratoryjnych i teoretycznych oraz potwierdzenia stabilności mikrobiologicznej dla mieszanin pozajelitowych przygotowywanych w tym schemacie.

6.2. Cele szczegółowe

Celami szczegółowymi było:

1. Ocena teoretycznych parametrów fizykochemicznych tj. osmolarności, krytycznego stężenia elektrolitów (CAN), ilości jonów jednowartościowych, ilości jonów dwuwartościowych.
2. Ocena laboratoryjnych parametrów fizykochemicznych związanych z wielkością kropli olejowych tj. potencjału zeta, przewodności, D 0.5 – maksymalnej średnicy 50% kropli fazy olejowej, D 0.9 – maksymalnej średnicy 90% kropli fazy olejowej, Z-average – średniej wielkości kropli olejowych, indeksu polidispersji oraz pH mieszaniny.
3. Charakterystyka wpływu na stabilność mieszaniny rodzaju zastosowanego opakowania tj. worek jednokomorowy jednowarstwowy względem worka jednokomorowego wielowarstwowego typu multilayer.
4. Charakterystyka wpływu rodzaju zastosowanej emulsji tłuszczowej tj. Smoflipid względem emulsji Lipidem na stabilność mieszaniny.
5. Ocena mikrobiologicznych wyników badań w celu określenia stabilności mikrobiologicznej domowych mieszanin pozajelitowych po upływie 15-dniowego okresu od momentu ich sporządzenia.

7. Materiał i metodyka

7.1. Charakterystyka badanych mieszanin pozajelitowych

Przedmiotem badań były składy 186 mieszanin do żywienia pozajelitowego, stosowane w programie domowego żywienia pozajelitowego u pacjentów Instytutu "Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka" w Warszawie. Analizowane mieszaniny żywieniowe stanowiły kompletne

mieszaniny do żywienia pozajelitowego All-In-One , zawierające pełen zakres składników odżywczych niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu.

Każdy skład podstawowy mieszanin do żywienia pozajelitowego zawierał makroelementy tj.:

- Węglowodany
- Aminokwasy
- Emulsje tłuszczowe
- Wodę

i był on uzupełniony o składniki dodatkowe czyli mikroelementy:

- Elektrolity
- Pierwiastki śladowe
- Witaminy

Grupa badana

Ze względu na rodzaj zastosowanych opakowań, badane mieszanki podzielono na dwie grupy:

- **Grupa I:** mieszanki sporządzone w workach jednokomorowych, wielowarstwowych (n=150) tj. mieszanki o numerach od 1 do 150. Wszystkie składniki odpowiadają mieszaninom stosowanym u osób leczonych w ramach domowego żywienia pozajelitowego.

- **Grupa II:** mieszanki sporządzone w workach jednokomorowych, jednowarstwowych (n=36) tj. mieszanki o numerach od 151 do 186. Grupa ta, to mieszanki pozajelitowe, które zostały wytypowane spośród składów wcześniej zbadanych w workach wielowarstwowych, dla których przeprowadzone badania potwierdziły ich stabilność fizykochemiczną.

Zarówno worki jednowarstwowe, jak i wielowarstwowe są biokompatybilne, apirogenne, nie zawierają lateksu ani DEHP, a także są sterylizowane tlenkiem etylenu. Parametrem różnicującym worki wielowarstwowe od worków jednowarstwowych jest barierowość materiału i liczba warstw z których wykonywane są opakowania dla mieszanin pozajelitowych. Worek jednowarstwowy do żywienia pozajelitowego jest wykonany z pojedynczej warstwy kopolimeru etylenu i octanu winylu (E.V.A. - ethylene vinyl acetate), natomiast worek wielowarstwowy zawiera trzy główne komponenty funkcjonalne:

- Kopolimer EVA (Ethylene Vinyl Acetate) jako warstwa ochronna zewnętrzna,

- Kopolimer EVOH (Ethylene Vinyl Alcohol) jako warstwa barierowa dla gazów i pary wodnej,
 - Kopolimer EVA (Ethylene Vinyl Acetate) jako warstwa kontaktowa z płynem.
- Worek wielowarstwowy charakteryzuje się większą barierowością i mniejszą przepuszczalnością dla powietrza w porównaniu do worków jednowarstwowych.

Grupa II podzielona została dodatkowo na dwie podgrupy ze względu na rodzaj zastosowanej emulsji tłuszczowej:

- Podgrupa IIA:

- Mieszaniny zawierające jako główną emulsję tłuszczową SMOFlipid 20% (n=18),
- Obejmuje mieszaniny od numeru 151 do 168.

- Podgrupa IIB:

- Mieszaniny zawierające jako główną emulsję tłuszczową Lipidem 20% (n=18),
- Obejmuje mieszaniny od numeru 169 do 186.

Taka różnorodna i liczna grupa umożliwiła porównanie stabilności mieszanin w zależności od zastosowanego opakowania zewnętrznego tj. worka oraz rodzaju emulsji tłuszczowej przy zachowaniu pozostałych parametrów składu na zbliżonym poziomie.

W załączniku numer 1 przedstawiono skład ilościowy 186 mieszanin do żywienia pozajelitowego, gdzie do przygotowania każdej mieszaniny (od nr 1 do nr 186) użyto następujących preparatów:

- roztwór aminokwasów: Aminoven infant 10% lub Vamin EF 11% lub Nephroprotect
- roztwór glukozy: Glucosum 40% lub Glucosum 50%
- emulsja tłuszczowa: Smoflipid 20% lub Lipidem 20%, Omegaven 10%
- pierwiastki śladowe: Peditrace lub Supliven
- organiczny związek fosforu: Glycophos
- roztwór chlorku sodu: Natrium chloratum 10%
- roztwór chlorku potasu: Kalium chloratum 15%
- roztwór siarczanu magnezu: Magnesium sulfuricum 20%
- roztwór glukonianu wapnia: Calcium gluconicum 10%
- preparat witamin rozpuszczalnych w tłuszczach: Vitalipid N Infant
- preparat witamin rozpuszczalnych w wodzie: Soluvit N
- preparat witamin rozpuszczalnych w wodzie i w tłuszczach: Cernevit
- woda do wstrzykiwań: Aqua pro injectione

Wartości liczbowe w załączniku 1 reprezentują objętości podane w mililitrach poszczególnych preparatów użytych do sporządzenia danej mieszaniny pozajelitowej. Każda kolumna odpowiada jednemu ze składników, a każdy wiersz reprezentuje kompletną recepturę jednej mieszaniny pozajelitowej.

Szczegółowa charakterystyka mieszanin pozajelitowych przedstawia zróżnicowanie ich składów i świadczy o indywidualizacji terapii żywienia pozajelitowego, która dostosowywana jest do aktualnych potrzeb pacjentów.

W tabeli numer 4 przygotowano kompleksowe zestawienie częstotliwości występowania poszczególnych makroelementów i mikroelementów we wszystkich 186 składach. Pozwoliło to na dokładną analizę składu i proporcji pomiędzy makroelementami oraz mikroelementami w kompletnych mieszaninach pozajelitowych, którą przedstawiono w dalszej części pracy. Zakres objętości dla każdego z preparatów podany został w mililitrach (ml).

W analizowanych mieszaninach do żywienia pozajelitowego najczęściej stosowanymi preparatami były: Glycophos, Natrium Chloratum 10%, Kalium Chloratum 15%, Magnesium sulfate 20% oraz Calcium gluconate 10%, które występowały we wszystkich 186 mieszaninach. Z kolei najrzadziej używanym preparatem był NephroTECT, który zastosowano tylko w jednej mieszaninie, a także Vamin EF 11% użyty w 11 mieszaninach oraz Lipidem 20% występujący w 18 mieszaninach.

W składzie mieszanin wykorzystywano trzy rodzaje preparatów aminokwasowych (Aminoven infant 10%, Vamin 11%, NephroTECT), trzy rodzaje emulsji tłuszczowych (Lipidem 20%, Omegaven, SMOFLipid 20%) oraz dwa rodzaje roztworów węglowodanowych (Glukoza 40% i 50%). Elektrolity i mikroelementy reprezentowane były przez pięć preparatów (Natrium Chloratum 10%, Kalium Chloratum 15%, Magnesium sulfate 20%, Calcium gluconate 10%, Glycophos), a pierwiastki śladowe przez dwa (Supliven i Peditrace). Witaminy podawano w postaci czterech preparatów: Soluvit N, Vitalipid N infant, Cernevit oraz kombinacji Soluvit N + Vitalipid N infant.

Jeśli chodzi o objętości składników, największe ilości dodawano w przypadku preparatu Aqua pro inj. (do 1350 ml), SMOFLipid 20% (do 400 ml) oraz Glukozy 50% (do 820 ml). Najmniejsze objętości dotyczyły preparatu Glycophos (1-23 ml), Supliven (3-10 ml) oraz Cernevit, który stosowano w stałej dawce 5 ml.

Analizując objętości całkowite mieszanin, można zauważyć, że w przypadku worków wielowarstwowych (mieszaniny nr 1-150) objętości wahały się od 374 ml do 2519 ml, ze średnią wynoszącą około 1500 ml. Natomiast w workach jednowarstwowych (mieszaniny nr 151-186) objętości mieściły się w zakresie od 748 ml do 2227 ml, ze średnią około 1400 ml.

Tabela 4. Częstość występowania makroelementów i mikroelementów w badanych mieszaninach do żywienia pozajelitowego

Nazwa preparatu	Liczba mieszanin (numery mieszanin)	Zakres objętości (ml)
Glukoza 40%	102 (2, 4, 6, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 21, 22, 23, 25, 26, 31, 32, 37, 38, 39, 40, 45, 46, 47, 51, 52, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 64, 66, 67, 69, 72, 75, 77, 79, 80, 82, 84, 86, 87, 90, 91, 92, 93, 94, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 103, 104, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 117, 118, 119, 121, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 132, 134, 135, 140, 141, 142, 143, 145, 146, 148, 152, 157, 159, 161, 165, 166, 170, 175, 177, 179, 183, 184)	140-600
Glukoza 50%	84 (1, 3, 5, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 19, 20, 24, 27, 28, 29, 30, 33, 34, 35, 36, 41, 42, 43, 44, 48, 49, 50, 53, 54, 63, 65, 68, 70, 71, 73, 74, 76, 78, 81, 83, 85, 88, 89, 95, 102, 105, 106, 116, 120, 122, 131, 133, 136, 137, 138, 139, 144, 147, 149, 150, 151, 153, 154, 155, 156, 158, 160, 162, 163, 164, 167, 168, 169, 171, 172, 173, 174, 176, 178, 180, 181, 182, 185, 186)	270-820
Aminoven infant 10%	174 (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 151, 152, 153, 155, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 173, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186)	75-660
Vamin EF 11%	11 (5, 12, 20, 83, 93, 102, 131, 154, 156, 172, 174)	295-600
Nephroprotect	1 (150)	225
Glycophos	186 (wszystkie)	1-23
Natrium Chloratum 10%	186 (wszystkie)	1-156
Kalium Chloratum 15%	186 (wszystkie)	2-72
Suptliven	44 (1, 3, 5, 9, 11, 12, 17, 18, 20, 28, 29, 30, 34, 35, 36, 43, 50, 73, 78, 83, 89, 93, 95, 102, 106, 131, 136, 147, 151, 153, 154, 156, 158, 160, 163, 168, 169, 171, 172, 174, 176, 178, 181, 186)	3-10
Peditrace	142 (2, 4, 6, 7, 8, 10, 13, 14, 15, 16, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 31, 32, 33, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 74, 75, 76, 77, 79, 80, 81, 82, 84, 85, 86, 87, 88, 90, 91, 92, 94, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 103, 104, 105, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 132, 133, 134, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 148, 149, 150, 152, 155, 157, 159, 161, 162, 164, 165, 166, 167, 170, 173, 175, 177, 179, 180, 182, 183, 184, 185)	4-15
Magnesium sulfate 20%	186 (wszystkie)	1-37
Calcium gluconate 10%	186 (wszystkie)	7-145
Lipidem 20%	18 (169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186)	30-360
Omegaven	25 (6, 14, 15, 31, 40, 54, 58, 63, 64, 110, 114, 115, 116, 120, 128, 138, 146, 149, 150, 152, 159, 161, 170, 177, 179)	45-360
SMOFlipid 20%	166 (wszystkie oprócz 115, 149, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186)	10-400
Aqua pro inj.	181 (wszystkie oprócz 36, 86, 96, 130, 132)	20-1350
Cernevit	28 (12, 18, 20, 28, 29, 34, 53, 74, 78, 81, 88, 89, 93, 95, 96, 102, 106, 130, 133, 136, 145, 147, 154, 156, 158, 172, 174, 176)	5
Vitalipid N infant	112 (2, 4, 8, 11, 14, 15, 19, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 31, 33, 35, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 46, 47, 48, 51, 52, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 69, 71, 72, 73, 75, 76, 77, 80, 82, 84, 85, 86, 87, 91, 92, 94, 97, 99, 101, 103, 104, 105, 107, 108, 109, 111, 112, 113, 114, 115, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 128, 129, 132, 134, 135, 137, 139, 140, 142, 143, 144, 146, 148, 150, 155, 157, 159, 160, 161, 162, 163, 166, 167, 173, 175, 177, 178, 179, 180, 181, 184, 185)	10-20
Soluvit N	112 (2, 4, 8, 11, 14, 15, 19, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 31, 33, 35, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 46, 47, 48, 51, 52, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 69, 71, 72, 73, 75, 76, 77, 80, 82, 84, 85, 86, 87, 91, 92, 94, 97, 99, 101, 103, 104, 105, 107, 108, 109, 111, 112, 113, 114, 115, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 128, 129, 132, 134, 135, 137, 139, 140, 142, 143, 144, 146, 148, 150, 155, 157, 159, 160, 161, 162, 163, 166, 167, 173, 175, 177, 178, 179, 180, 181, 184, 185)	4-10
Soluvit N + Vitalipid N infant	46 (1, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 13, 16, 17, 21, 30, 32, 36, 37, 44, 45, 49, 50, 65, 68, 70, 79, 83, 90, 98, 100, 110, 116, 127, 131, 138, 141, 149, 151, 152, 153, 164, 165, 168, 169, 170, 171, 182, 183, 186)	10

7.2. Metody oceny stabilności fizykochemicznej na podstawie parametrów teoretycznych oraz laboratoryjnych

7.2.1. Parametry teoretyczne do oceny stabilności mieszanin pozajelitowych

Ocena stabilności fizykochemicznej została oparta na dwóch głównych metodologiach badawczych: analizie parametrów teoretycznych oraz badaniach laboratoryjnych mieszanin pozajelitowych w celu określenia ich rzeczywistej trwałości.

Analiza parametrów teoretycznych przeprowadzono poprzez dokładne wyliczenia ze składu ilościowego podanego na receptach lekarskich. Dla każdej badanej mieszaniny pozajelitowej wykonano indywidualne kalkulacje uwzględniające wszystkie przepisane składniki. W ocenie stabilności mieszanin żywieniowych obliczono następujące parametry:

1. CAN

CAN (Critical Agregation Number) to kluczowy parametr oceny stabilności mieszanin do żywienia pozajelitowego, który określa wpływ elektrolitów na stabilność emulsji tłuszczowej.

Dane literaturowe wskazują, że wartość graniczna dla wartości CAN nie powinna przekraczać 600 dla mieszanin stabilnych. Wynika to z faktu, że stabilność emulsji tłuszczowej opiera się na następujących zasadach:

- Cząsteczki tłuszczu są otoczone warstwą ujemnie naładowanych fosfolipidów.
- Ujemny ładunek (potencjał zeta) zapewnia wzajemne odpychanie się cząsteczek.
- Nadmiar kationów może zneutralizować ten ładunek i doprowadzić do agregacji cząstek.

Przy ocenie stabilności należy uwzględnić wszystkie jony obecne w mieszaninie, włączając te zawarte w roztworach podstawowych, elektrolity występujące w roztworach aminokwasów oraz jony pochodzące z dodatkowych ampulek. Największy wpływ na stabilność mają kationy dwuwartościowe oraz jednowartościowe, podczas gdy zawartość kationów trójwartościowych jest zwykle stała i pochodzi z preparatów pierwiastków śladowych.

Współczynnik CAN ułatwia określenie destabilizacji emulsji tłuszczowej poprzez:

- Ocenę wpływu kationów na stabilność miceli tłuszczowych.
 - Kontrolę wielkości cząstek emulsji, która nie powinna przekraczać 5,0 μm .
 - Zapobieganie agregacji kropelek tłuszczu w mieszaninie.
- Parametr CAN uważa się za istotny przy:
- Określaniu maksymalnego dopuszczalnego stężenia kationów w mieszaninie.

- Zapewnieniu odpowiedniego ładunku ujemnego na powierzchni miceli tłuszczowych.
- Przewidywaniu ryzyka destabilizacji emulsji przy modyfikacji składu mieszaniny.

Przygotowując mieszaninę do żywienia pozajelitowego wyliczamy ten parametr w celu weryfikacji wyboru między systemem "2 w 1" a "3 w 1", co jest szczególnie ważne w przypadku mieszanin przeznaczonych dla noworodków i pacjentów pediatrycznych.

2. $[Na^+] + [K^+] \leq 130 \text{ mmol/l}$; $[Mg^{2+}] + [Ca^{2+}] \leq 8 \text{ mmol/l}$

Wartości parametrów jonów jednowartościowych i dwuwartościowych służą także do oceny wpływu stężeń elektrolitów na stabilność emulsji tłuszczowej w mieszaninach do żywienia pozajelitowego i określają maksymalne dopuszczalne sumy stężeń:

- Dla kationów jednowartościowych (sodu i potasu): suma nie może przekraczać 130 mmol/l.
- Dla kationów dwuwartościowych (magnezu i wapnia): suma nie może przekraczać 8 mmol/l.

Są to główne parametry oceny stabilności emulsji tłuszczowej, obok wskaźnika CAN. W praktyce kationy dwuwartościowe (Ca^{2+} i Mg^{2+}) mają największy wpływ na stabilność emulsji, podczas gdy kationy jednowartościowe (Na^+ i K^+) wywierają teoretycznie mniejszy wpływ. W przypadku przekroczenia tych wartości istnieje ryzyko destabilizacji emulsji tłuszczowej, co może prowadzić do jej rozpadu i utraty właściwości odżywczych mieszaniny.

3. Osmolarność

Osmolarność mieszaniny do żywienia pozajelitowego oblicza się następująco:

1. Dla każdego składnika należy:

- Pomnożyć osmolarność teoretyczną składnika przez jego objętość.
- W przypadku elektrolitów należy wyliczyć ilość mmol wszystkich jonów.

2. Zsumować otrzymane wyniki dla wszystkich składników.

3. Podzielić sumę przez całkowitą objętość worka.

Wartości graniczne:

- Do podania obwodowego jest to maksymalnie 850 mOsm/l.
- W niektórych przypadkach możliwe jest podanie obwodowe mieszanin o osmolarności 1000-1200 mOsm/l, zależnie od stanu pacjenta.
- Mieszaniny o wyższej osmolarności wymagają podania przez dostęp centralny.

Osmolarność wpływa na:

1. Stabilność mikrobiologiczną:

- Wyższa osmolarność spowalnia rozwój mikroorganizmów.
- Jest to jeden z czynników chroniących mieszaninę przed skażeniem.

2. Stabilność emulsji tłuszczowej:

- Emulsje lipidowe stosowane w żywieniu pozajelitowym mają niską osmolarność.
- Zmiany osmolarności mogą prowadzić do destabilizacji emulsji.

3. Bezpieczeństwo podania:

- Osmolarność decyduje o możliwości podania mieszaniny przez żyły obwodowe lub konieczności wykorzystania dostępu centralnego.
- Przy podaniu obwodowym zbyt wysoka osmolarność może powodować ból, stan zapalny i zakrzepicę.

Należy korzystać z charakterystyk produktów leczniczych, aby uzyskać osmolarność teoretyczną poszczególnych składników. Dla elektrolitów, jeśli nie podano osmolarności teoretycznej, należy wyliczyć ilość mmol wszystkich jonów w preparacie. Obliczenia dotyczą osmolarności teoretycznej są najczęściej wykonywane w praktyce przy kontroli nowych zleceń na żywienie pozajelitowe.

7.2.2. Parametry laboratoryjne do oceny stabilności mieszanin pozajelitowych

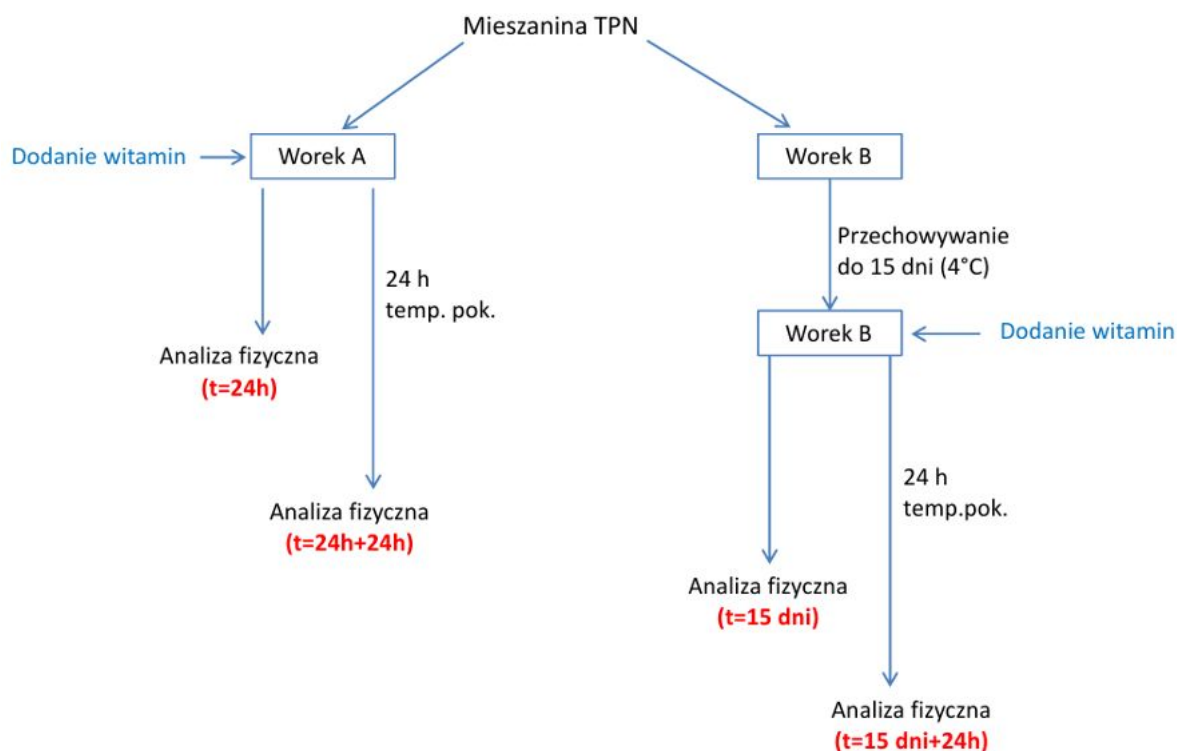
W celu przeprowadzenia analizy laboratoryjnej sporządzono mieszaniny TPN AIO w Pracowni Żywieniowej Apteki Szpitalnej Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie, zgodnie z obowiązującymi standardami farmaceutycznymi oraz instrukcjami stanowiskowymi. Protokoły dotyczące sporządzanych mieszanin są dostępne w Aptece Szpitalnej Instytutu „Pomnik–Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie. Dokładne dane na temat preparatów, w tym numery serii użytych preparatów do sporządzania mieszanin TPN AIO są dostępne w Aptece Szpitalnej Instytutu „Pomnik–Centrum Zdrowia Dziecka”.

Schemat analiz mieszanin TPN

Badania mieszanin (worki A) prowadzono po 24 h od ich sporządzenia i przechowywania w temperaturze 2°C - 8°C, które natychmiast doprowadzono do temperatury pokojowej przez około 2h i dodawano witaminy. Dlatego pierwsza analiza mieszanin po sporządzeniu jest określona jako t=24h, a nie t=0. Następnie po pobraniu 50 ml mieszaniny do analizy worki przechowywano 24 h w temperaturze pokojowej chroniąc od światła (t=24h+24h). Natomiast drugi worek (seria B) o tym samym składzie przechowywano do 15 dni w temperaturze 2°C - 8°C i postępowano analogicznie. Po wyjęciu z lodówki, przed analizą, każdą mieszaninę

przechowywano przez 2 h w temperaturze pokojowej ($21\pm 2^{\circ}\text{C}$), po tym czasie dodawano witaminy ($t=15$ dni). Po pobraniu prób mieszaniny przechowywano 24 h w temperaturze pokojowej ($21\pm 2^{\circ}\text{C}$) bez dostępu światła, po czym również analizowano ($t=15$ dni+24h).

Rycina 1. Schemat analizy mieszanin TPN



Dostrzykiwanie witamin do mieszanin TPN AIO

Do mieszanin dodawano za pomocą jałowej igły ze strzykawką przepisaną ilość witamin. Witaminy otrzymywano poprzez rozpuszczenie liofilizatu witamin rozpuszczalnych w wodzie (Soluvit N) w emulsji tłuszczowej zawierającej witaminy rozpuszczalne w fazie olejowej (Vitalipid N Infant) lub preparatu Cernevit w 0,9% roztworze chlorku sodu do wstrzykiwań. W tym celu do każdej fiolki preparatu Soluvit N dodawano 10 ml preparatu Vitalipid N Infant i mieszano do rozpuszczenia lub do fiolki preparatu Cernevit dodawano 5 ml 0,9% roztworu chlorku sodu do wstrzykiwań i mieszano do rozpuszczenia. Tak rozpuszczone witaminy odmierzano za pomocą strzykawki z igłą w przepisanej ilości i dodawano do mieszanin TPN. Kompletną mieszaninę TPN z witaminami dokładnie mieszano. W procesie sporządzania i wstrzyknięcia preparatów witaminowych do mieszaniny pozajelitowej posłużono się następującymi materiałami:

- Witaminy:
 Cernevit - proszek do sporządzania roztworu do wstrzykiwań i infuzji (Baxter, Lessines, Belgia),
 Soluvit N – proszek do sporządzania roztworu do infuzji (Fresenius Kabi, Uppsala, Szwecja),
 Vitalipid N Infant – koncentrat witamin do sporządzania emulsji do infuzji (Fresenius Kabi, Uppsala, Szwecja).
- Igły iniekcyjne jednorazowe 1,1 x 40 mm (Romed Holland, Wilnis, Holandia).
- Jałowe strzykawki typu luer lock: 2 ml, 5 ml i 10 ml BD Discardit z PP (Becton Dickinson, Fraga, Hiszpania).

Aparatura

Badania fizykochemiczne zrealizowano z wykorzystaniem poniższej aparatury pomiarowej i pomocniczej w Pomorskim Uniwersytecie Medycznym w Szczecinie.:

- Analizator wielkości cząstek i potencjału zeta Zetasizer Ultra (Malvern Instruments, Malvern, Wielka Brytania).
- Aparat do oczyszczania wody metodą wymiany jonowej i odwróconej osmozy (Hydrolab, Polska).
- Dyfraktometr laserowy MasterSizer 3000 Hydro (Malvern Instruments, Malvern, Wielka Brytania).
- Mikroskop optyczny i program do analizy obrazu Multiscan.
- Pehametr typ 350 (Orion-Research, Boston, USA) z elektrodą kombinowaną ERH-11 (Zakład Produkcji Elementów Aparatury Fizykochemicznej- Hydromet, Warszawa).
- Kuwety poliwęglanowe do pomiaru potencjału zeta typ DTS 1061 (Malvern Instruments, Malvern, Wielka Brytania).
- Waga elektroniczna Sartorius (Sartorius, Goettingen, Niemcy).
- Lodówka z kontrolą temperatury (2-8°C).

Pobieranie próbki do analizy

Każdorazowo do analizy laboratoryjnej w danym punkcie czasowym pobierano mieszaninę TPN za pomocą jałowej igły ze strzykawką. Z pobranej porcji sporządzano preparaty do obserwacji mikroskopowych, próbę do pomiaru wielkości kropli olejowych metodą PCS oraz potencjału zeta, a w pozostałej próbówce mierzono pH mieszanin.

W trakcie analiz mieszanin do żywienia pozajelitowego dokonano pomiaru następujących parametrów fizykochemicznych:

1. Wielkość kropli olejowych lub strąków.
2. pH mieszaniny [60,63].
3. D 0,5 - maksymalna średnica 50% kropli olejowych obecnych w układzie [7,62].
4. D 0,9 - maksymalna średnica 90% kropli olejowych obecnych w układzie [7,62].
5. Z-Average – uśredniona wielkość kropli olejowych w układzie.
6. PDI – indeks polidispersji [7,62].
7. Potencjał zeta [7,55].
8. Przewodność [7,55].

Wymienione powyżej parametry fizykochemiczne według danych literaturowych są kluczowe dla oceny stabilności mieszanin do żywienia pozajelitowego i pozwalają na przewidywanie ich zachowania podczas przechowywania i podawania mieszaniny All-In-One pacjentowi. Wielkość kropli olejowych jest jednym z najważniejszych wskaźników stabilności emulsji tłuszczowej. Parametry D0,5 i D0,9 określają odpowiednio maksymalną średnicę 50% i 90% kropli olejowych w układzie, co pozwala ocenić jednorodność emulsji. Potencjał zeta jest miarą stabilności elektrycznej emulsji i określa wielkość odpychania elektrostatycznego między kroplami. pH mieszaniny ma kluczowe znaczenie dla zachowania stabilności - wpływa na ryzyko wytrącania się osadów, szczególnie w przypadku połączeń wapnia i fosforanów. Optymalne pH dla stabilności mikrobiologicznej wynosi około 5,5. Indeks polidispersji oraz Z-Average dostarczają informacji o rozkładzie wielkości kropli tłuszczowych i jednorodności emulsji. Parametry te są szczególnie istotne przy ocenie stabilności długoterminowej.

Regularne monitorowanie wszystkich wymienionych parametrów pozwala na:

- Wczesne wykrycie oznak destabilizacji mieszaniny.
- Ocenę bezpieczeństwa podania preparatu pacjentowi.
- Określenie maksymalnego czasu przechowywania.

Kompleksowa analiza tych parametrów jest niezbędna zarówno w warunkach przemysłowych, jak i w pracowniach żywieniowych przygotowujących indywidualne mieszaniny dla pacjentów. Jednocześnie dane literaturowe wskazują, że należą do najczęściej badanych wskaźników w procesie kontroli jakości tych preparatów.

1. Ocena wizualna oraz obserwacja mikroskopowa

Obserwowano wygląd mieszanin TPN okiem nieuzbrojonym oceniając barwę, konsystencję i homogenność układów, obecność kropli olejowych lub strąków oraz prowadzono obserwacje mikroskopowo za pomocą mikroskopu optycznego, wykorzystując powiększenie 400-krotne. Zwracano uwagę na wielkość kropli fazy olejowej, notując obecność skupisk bądź fragmentów o nieregularnym kształcie oraz ewentualną obecność strąków. Mieszaniny TPN nanoszono bezpośrednio na szkiełka podstawowe.

Obserwacje wizualne wszystkich mieszanin TPN w okresie przechowywania charakteryzowały się homogennością. Intensywność barwy jasnożółtej była zależna od ilości dostrzykniętych do mieszaniny witamin i nie ulegała zmianom w okresie przechowywania. Nie obserwowano kropli olejowych lub strąków.

Obserwacje mikroskopowe kompletnych mieszanin TPN w obrazie mikroskopowym charakteryzowały się kroplami fazy olejowej o wielkości poniżej 1 μm . W sytuacji, gdy zaobserwowano krople olejowe o wielkości powyżej 5 μm uznawano mieszaninę za niestabilną.

Stwierdzono stabilność badanych 166 składów mieszanin TPN, z wyjątkiem mieszanin o numerach: 27, 33, 83, 84, 90, 99, 103, 106, 116, 118, 119, 137, 145, 151, 155, 160, 164, 175, 177 oraz 180.

- W mieszaninach 27, 33 po 15 dniach oraz 15 dniach + 24h przechowywania notowano cząstki o wielkości 5-8 μm w obrazie mikroskopowym.
- W mieszaninach 83, 84 po 15 dniach + 24h przechowywania notowano cząstki o wielkości 4-6 μm w obrazie mikroskopowym.
- W mieszaninach 90, 99 po 15 dniach + 24h przechowywania notowano cząstki o wielkości 10 μm w obrazie mikroskopowym.
- W mieszaninach 103, 116 po 24h, 24h+24h, po 15 dniach oraz 15 dniach + 24h przechowywania notowano cząstki o wielkości 5-8 μm w obrazie mikroskopowym.
- W mieszaninach 106, 118, 119, 137, 145 po 24h+24h przechowywania notowano cząstki o wielkości 4-6 μm w obrazie mikroskopowym.
- W mieszaninach 151, 155, 160, 164, 175, 177, 180 po 15 dniach + 24h przechowywania notowano cząstki o wielkości 4-10 μm w obrazie mikroskopowym.

2. Pomiar pH

Wartość pH mierzono potencjometrycznie, zanurzając elektrodę kombinowaną pehametru w badanym układzie.

Pomiar wielkości kropli olejowych

Do pomiarów wielkości kropli olejowych i parametrów analogicznych zastosowano dwie metody analityczne:

- Dyfrakcja laserowa (metoda LD)

Do komory pomiarowej, wypełnionej wodą oczyszczoną, każdorazowo wprowadzano ok. 1 ml mieszaniny TPN. Pomiar rozpoczynało w momencie uzyskania zaciemnienia min. 11%. Układy oceniano na podstawie następujących parametrów:

3. $d(0,5)$ – maksymalna średnica 50% kropli olejowych obecnych w układzie
4. $d(0,9)$ – maksymalna średnica 90% kropli olejowych obecnych w układzie

- Spektroskopia korelacji fotonowej (metoda PCS)

Kuwetę pomiarową wypełniano mieszaniną TPN rozcieńczoną wodą oczyszczoną w stosunku wagowym 1:100. Pomiar prowadzono w termostатовanej celi pomiarowej (25°C). Układy oceniano na podstawie parametrów:

5. Z-Average – uśredniona wielkość kropli olejowych w układzie. Jest to parametr potwierdzający bezpieczeństwo stosowania mieszanin do żywienia pozajelitowego, gdyż utrzymanie stałej wielkości cząstek świadczy o zachowaniu właściwości fizykochemicznych emulsji.
6. PDI – indeks polidispersji określa homogenność układu i jest wskaźnikiem jednorodności wielkości cząstek w emulsji.
7. Pomiar potencjału zeta

Wartość potencjału zeta mierzono za pomocą analizatora Zetasizer. Pomiar prowadzono w termostатовanej celi pomiarowej (25°C). Emulsje tłuszczowe w żywieniu pozajelitowym składają się z kulistych cząstek lipidów o strukturze micelarnej, których wielkość jest porównywalna do chylomikronów. Zewnętrzna część miceli ma charakter hydrofilowy i posiada ładunek ujemny, podczas gdy wewnątrz znajdują się lipofilowe łańcuchy kwasów tłuszczowych. Ładunek ujemny na powierzchni miceli, mierzony jako potencjał zeta zapobiega agregacji cząstek tłuszczu poprzez wzajemne ich odpychanie.

8. Przewodność – to parametr wskazujący na zdolność emulsji do przewodzenia prądu elektrycznego. Niższa przewodność sugeruje mniejszą ilość wolnych jonów w roztworze. Wyższa przewodność może wskazywać na większą zawartość elektrolitów w mieszaninie.

7.3. Metody oceny stabilności mikrobiologicznej

W niniejszym rozdziale przedstawiono metodologię badania stabilności mikrobiologicznej mieszanin do żywienia pozajelitowego. Głównym celem przeprowadzonego badania była weryfikacja jałowości mieszanin żywieniowych po upływie 24 godzin oraz po 15 dniach + 24 godziny od momentu ich sporządzenia.

Przygotowanie próbek

Domowe mieszaniny do żywienia pozajelitowego zostały sporządzone w warunkach aseptycznych przez wykwalifikowany personel Pracowni Żywienia Apteki Szpitalnej Instytutu "Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka", zgodnie z obowiązującymi procedurami w Procesie Gospodarki Lekiem IPCZD - PXIII, QP4A [28]. Badanie oparto na fundamentalnej zasadzie jednorodności serii produkcyjnej, zakładającej równomierne ryzyko potencjalnej kontaminacji dla wszystkich pojemników w obrębie danej partii.

Dobór próby badawczej

Do analizy mikrobiologicznej wyselekcjonowano 18 składów/serii domowych mieszanin pozajelitowych, co odpowiada liczbie tras dystrybucyjnych domowego żywienia pozajelitowego na terenie Polski. Każda z mieszanin pozajelitowych została przygotowana w dwóch identycznych porcjach o objętości 250 ml, oznaczonych jako próbka A i B.

Tabela 5. Składy domowych mieszanin do żywienia pozajelitowego wytypowane do badań mikrobiologicznych.

Lp.	Numer mieszaniny	40% Glukoza (ml)	50% Glukoza (ml)	10% Aminoven inf. (ml)	11% Vamin EF (ml)	Nephroprotect (ml)	Glycophos (ml)	10% Natrium Chloratum (NaCl) (ml)	15% Kalium Chloratum (KCl) (ml)	Supliven (ml)	Peditrace (ml)	20% Magnesium Sulphuricum (MgSO4) (ml)	10% Calcium gluconicum (ml)	Omegaven (ml)	20% SMOFlipid (ml)	Aqua pro inj. (ml)	Soluvit N + Vitalipid inf. N (ml)	Cernevit (ml)	Vitalipid inf. (ml)	Soluvit N (ml)	Objętość mieszaniny (ml)
1	22	490		270			5	80	10		15	3	32		150	850			10	10	1925
2	29		665	650			7	22	25	4		10	52		350	80		5			1870
3	35		680	600			6	22	24	4		8	55		360	20			20	10	1809
4	47	325		185			7	13	7		9	2	27		120	230			10	9	944
5	49		540	350			10	22	16		15	9	40		250	450	10				1712
6	54		480	400			8	48	25		15	6	40	250	175	230			10	10	1697
7	64	160		110			4	14	2		4	1	17	45	10	290			10	4	671
8	69	325		220			11	5	18		14	2	8		30	700			10	10	1353
9	85		470	400			10	54	12		15	4	48		290	900			10	10	2223
10	102		380		295		8	38	27	5		6	47		160	380		5			1351
11	105		470	420			5	20	17		15	5	28		220	430			10	10	1650
12	110	500		285			14	12	10		10	3,5	34	100	110	130	10				1218,5
13	125	360		225			9	19	14		12	2	24		150	350			10	10	1185
14	130	600		530			4	18	17		15	4	50		340			5			1583
15	136		520	520			14	54	65	6		37	145		400	400		5			2166
16	147		360	330			6	156	22	5		22	56		150	650		5			1762
17	148	580		370			8	13	21		15	3	45		235	310			10	10	1620
18	150		430			225	11	40	22		15	10	25	185	65	1350			10	10	2398

Warunki przechowywania

Zastosowano dwa odmienne schematy przechowywania:

- Próbką A: badanie mieszanin przeprowadzono po 24 godzinach przechowywania w warunkach chłodniczych (2-8°C) i doprowadzeniu do temperatury pokojowej przez 2 godziny przed badaniem oraz dodano witaminy.
- Próbką B: mieszaniny przechowywano w warunkach chłodniczych (2-8°C) przez 15 dni, a następnie poddano ekspozycji mieszaninę pozajelitową z witaminami na temperaturę pokojową przez 24 godziny.

Po zakończeniu okresów przechowywania, próbki zostały przekazane do analizy mikrobiologicznej w Pracowni Diagnostyki Mikrobiologii Zakładu Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej IPCZD.

Założenia kontroli jakości

Istotnym elementem metodologii było przyjęcie założenia, że mieszaniny pozajelitowe sporządzone w identycznych warunkach aseptycznych, przy użyciu tego samego sprzętu i przez ten sam zespół, mogą być traktowane jako jedna seria produkcyjna. Takie podejście umożliwiło systematyczną ocenę stabilności mikrobiologicznej w kontekście rzeczywistych warunków dystrybucji domowego żywienia pozajelitowego.

Przebieg badania

Badanie wykonano zgodnie z instrukcją obowiązującą w IPCZD „Badanie mikrobiologicznej czystości mieszanin pozajelitowych i sposobu ich wytwarzania” - PX_ZMK/RM;QP_M29 [54]. Schemat badania przedstawiono na rycinie 2.

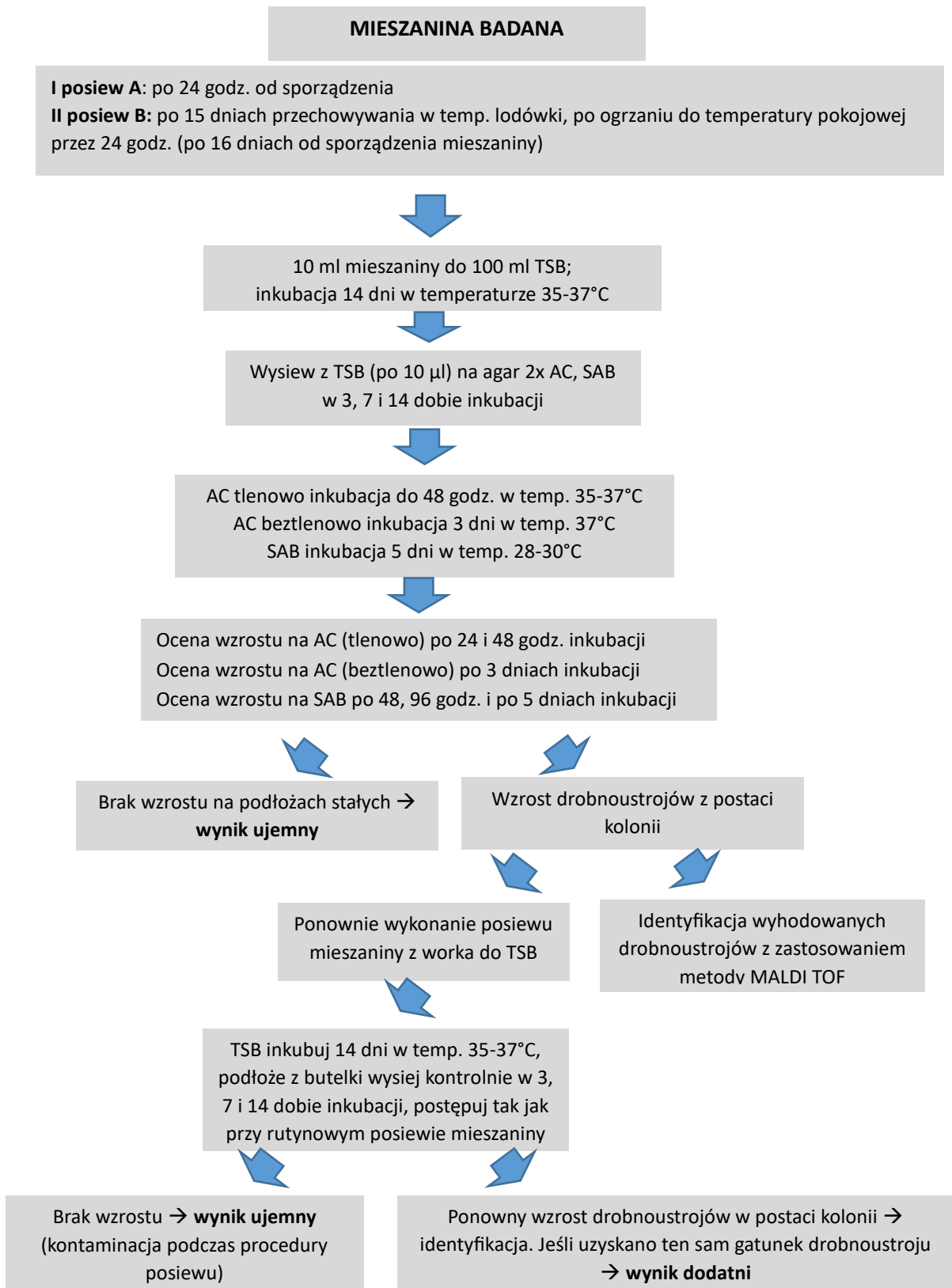
Do badania zastosowano podłoża mikrobiologiczne:

1. TSB Pharma (TSB) – 100 ml (firma Graso)
2. Columbia agar z 5% krwią baranią (AC) (firma Graso)
3. Podłoże Saborauda do hodowli grzybów (SAB) (firma Graso)

Posiewy wykonano w komorze laminarnej przestrzegając zasad aseptyki. Badane mieszaniny posiewano w stosunku 1:10 na podłoże TSB Pharma (10 ml badanej mieszaniny za pomocą igły i strzykawki przenoszono do 100 ml podłoża TSB). Butelki z posianym materiałem inkubowane były w cieplarni o zakresie temp. 35-37°C przez 14 dni. W tym czasie po 3, 7, 14 dobie inkubacji wykonywany był kolejny posiew z każdej butelki na podłoża stałe: 2 podłoża AC i 1 podłoże SAB w ilości 10 µl (oczko dużej ezy na każdą płytkę z podłożem). Następnie prowadzono hodowlę w kierunku bakterii tlenowych, beztlenowych oraz grzybów. Inkubacja podłoża AC w kierunku tlenowym prowadzona była w warunkach tlenowych w cieplarni

o zakresie temp. 35-37°C przez 48 godzin. Inkubacja drugiego podłoża AC w kierunku beztlenowym odbyła się w komorze do hodowli beztlenowców o temp. 37°C przez 3 dni. Podłoże SAB w kierunku grzybów inkubowane było w cieplarni o zakresie temp. 28-30°C przez 5 dni.

Rycina 2. Algorytm postępowania z mieszaniną żywieniową poddawaną badaniu mikrobiologicznemu.



Interpretacja wyników

Mieszanina do żywienia pozajelitowego musi być sterylna. Wzrost drobnoustrojów świadczy o utracie stabilności mikrobiologicznej i nieprzydatności mieszaniny pozajelitowej do użycia i podania pacjentowi. Wzrost drobnoustrojów wskazuje na zanieczyszczenie podczas wykonywania serii worków z mieszaniną pozajelitową w aptece i powoduje wycofanie tej serii z leczenia.

7.4. Analiza statystyczna

W ramach pracy doktorskiej przeprowadzono szczegółową analizę statystyczną zebranych danych. Statystykę oparto o analizę rozkładów zmiennych, która okazała się nie mieć charakterystyki rozkładu normalnego w teście Shapiro-Wilka, co zdeterminowało wybór testów nieparametrycznych jako głównych narzędzi analitycznych.

Dobór próby badawczej

Wielkość próby została określona z uwzględnieniem dwóch scenariuszy populacyjnych. Dla populacji liczącej 150 osób, minimalna wymagana liczebność próby wyniosła 108 osób, natomiast dla populacji 20-osobowej konieczne było zbadanie 19 osób. Kalkulacje te zostały przeprowadzone przy standardowych parametrach ufności statystycznej:

- poziom ufności: 95%
- margines błędu: 5%

Zastosowane metody statystyczne:

1. Test U Manna-Whitneya
2. Test chi-kwadrat
3. Test mediany
4. Korelacja porządku rang Spearmana z graficzną prezentacją korelacji liniowej

Poziom istotności

Za próg istotności statystycznej przyjęto standardową wartość $p < 0.05$, co oznacza, że ryzyko popełnienia błędu pierwszego rodzaju (odrzućenia prawdziwej hipotezy zerowej) wynosi 5%.

Procedura analityczna

Proces analizy statystycznej został przeprowadzony w następujących etapach:

1. Weryfikacja rozkładu zmiennych.
2. Obliczenie niezbędnej wielkości próby.
3. Przeprowadzenie testów nieparametrycznych.

4. Analiza korelacji między zmiennymi.

5. Interpretacja uzyskanych wyników.

Analizy wykonano przy użyciu programu StatSoft, Inc. (2005). STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com.

8. Wyniki

8.1. Wartości parametrów teoretycznych i laboratoryjnych dla mieszanin stabilnych z grupy I i II

Wartości parametrów teoretycznych oraz wyniki pomiarów laboratoryjnych dla stabilnych mieszanin pozajelitowych przedstawiono w załączniku 2, 3 i 4.

Komentarz do załącznika 2:

Zakresy wartości dla poszczególnych parametrów teoretycznych prezentowanych w załączniku 2 stabilnych mieszaninach pozajelitowych przedstawiały się następująco:

- Liczba jonów dwuwartościowych mmol/ 1l mieszaniny: 2,54 – 29,06.
- Liczba jonów jednowartościowych mmol/ 1 l mieszaniny: 20,86 – 182,29.
- Wartość CAN: 211,86 – 1975,34.
- Liczba jonów Mg⁺⁺ mmol/kg mc.: 0,044 – 0,520.
- Liczba jonów Ca⁺⁺ mmol/kg mc.: 0,129 – 0,930.
- Liczba jonów dwuwartościowych mmol/kg mc.: 0,189 – 1,137.
- Liczba jonów Na⁺ mmol/kg mc.: 0,418 – 10,138.
- Liczba jonów K⁺ mmol/kg mc.: 0,410 – 4,137.
- Liczba jonów jednowartościowych mmol/kg mc.: 0,896 – 1,527.
- Liczba P (fosfor) mmol/kg mc.: 0,018 – 1,206.
- Osmolarność mOsm/l: 725,36 – 1556,53.

Komentarz do załącznika 3:

- Wartość pH kompletnych stabilnych mieszanin TPN w czasie t=24h wynosiła 5,48 – 6,27. Wartość pH nie wykazywała istotnych zmian (tj. $\pm 0,14$ jednostki) w czasie przechowywania w odniesieniu do wartości początkowej.
- Potencjał zeta kompletnych stabilnych mieszanin TPN w czasie t=24h charakteryzował się ujemną wartością w przedziale -13 do -33 mV. Parametr ten ulegał średnim zmianom ($\pm 5,61$ mV) w czasie przechowywania.

- Przewodność kompletnych stabilnych mieszanin TPN w czasie $t=24h$ wynosiła 0,016 – 0,249, ze średnią zmianą w trakcie przechowywania wynoszącą 0,062.

Komentarz do załącznika 4:

- Mediana średnicy kropli olejowych D 0.5 badanych stabilnych mieszanin TPN w czasie $t=24h$ wynosiła: 125-298 nm.
- Maksymalna średnica 90% kropli fazy olejowej występujących w mieszaninach TPN D 0.9 nie przekraczała 538 nm w czasie $t=24h$.
- Średni wzrost dla D 0.5 wynosił 52,9 nm, a dla D 0.9 wynosił 43,41 nm.
- Wartość parametru Z-Average w mieszaninach stabilnych po sporządzeniu zawierały się w przedziale 210-311,4 nm, natomiast indeks polidispersji 0,014 – 0,288.
- Zmiana średniej wielkości kropli olejowej w czasie przechowywania mieszaniny TPN wynosiła 27,066 nm, natomiast średnia zmiana indeksu polidispersji to 0,075.

8.2. Wartości parametrów teoretycznych i laboratoryjnych dla mieszanin niestabilnych z grupy I i II

Wartości parametrów teoretycznych oraz wyniki pomiarów laboratoryjnych dla niestabilnych mieszanin pozajelitowych przedstawiono w załączniku 5, 6 i 7.

Komentarz do załącznika 5:

Zakresy wartości dla poszczególnych parametrów teoretycznych prezentowanych w tabelach niestabilnych mieszanin pozajelitowych przedstawiały się następująco:

- Liczba jonów dwuwartościowych mmol/ 1l mieszaniny: 4,68 – 25,90.
- Liczba jonów jednowartościowych mmol/ 1 l mieszaniny: 29,11 – 110,54.
- Wartość CAN: 328,51 – 1768,37.
- Liczba jonów Mg^{++} mmol/kg mc.: 0,094 – 0,542.
- Liczba jonów Ca^{++} mmol/kg mc.: 0,176 – 1,031.
- Liczba jonów dwuwartościowych mmol/kg mc.: 0,279 – 1,419.
- Liczba jonów Na^{+} mmol/kg mc.: 0,970 – 8,946.
- Liczba jonów K^{+} mmol/kg mc.: 0,710 – 5,644.
- Liczba jonów jednowartościowych mmol/kg mc.: 1,739 – 14,590.
- Liczba P (fosfor) mmol/kg mc.: 0,085 – 1,034.
- Osmolarność mOsm/l: 733,23 – 1503,76.

Komentarz do załącznika 6:

- Wartość pH kompletnych niestabilnych mieszanin TPN w czasie $t=24h$ wynosiła 5,87 – 6,19. Wartość pH nie wykazywała istotnych zmian (tj. $\pm 0,16$ jednostki) w czasie przechowywania w odniesieniu do wartości początkowej.
- Potencjał zeta kompletnych niestabilnych mieszanin TPN w czasie $t=24h$ charakteryzował się ujemną wartością w przedziale -15 do -32 mV. Parametr ten ulegał średnim zmianom ($\pm 7,44$ mV) w czasie przechowywania.
- Przewodność kompletnych niestabilnych mieszanin TPN w czasie $t=24h$ wynosiła 0,014 – 0,224, ze średnią zmianą w trakcie przechowywania wynoszącą 0,079.

Komentarz do załącznika 7:

- Mediana średnicy kropli olejowych D 0.5 badanych niestabilnych mieszanin TPN w czasie $t=24h$ wynosiła w granicach 118-280 nm.
- Maksymalna średnica 90% kropli fazy olejowej występujących w mieszaninach TPN D 0.9 nie przekraczała 479 nm w czasie $t=24h$.
- Średni wzrost dla D 0.5 wynosił 52,15 nm, a dla D 0.9 wynosił 34,85 nm.
- Wartość parametru Z-Average w mieszaninach po sporządzeniu zawierały się w przedziale 215-250 nm, natomiast indeks polidispersji 0,049 – 0,135.
- Zmiana średniej wielkości kropli olejowej w czasie przechowywania mieszaniny TPN wynosiła 21,505 nm, natomiast średnia zmiana indeksu polidispersji to 0,072.

W kolejnych podrozdziałach przedstawiono szczegółową analizę statystyczną parametrów fizykochemicznych mieszanin stabilnych i niestabilnych, wykorzystując statystyki opisowe oraz test U Manna-Whitneya. Przeprowadzone badania koncentrowały się na wieloaspektowej ocenie stabilności domowych mieszanin pozajelitowych, przygotowywanych z przeznaczeniem do 15-dniowego okresu przechowywania. W ramach analizy uwzględniono szereg parametrów teoretycznych oraz laboratoryjnych, które mogą determinować stabilność preparatów. Szczególną uwagę poświęcono także ocenie wpływu rodzaju zastosowanego worka (jedno- lub wielowarstwowego) oraz rodzaju wykorzystanej emulsji tłuszczowej (Smoflipid, Lipidem) na właściwości fizykochemiczne badanych mieszanin. Zastosowanie testu U Manna-Whitneya, jako nieparametrycznej alternatywy dla testu t-Studenta, pozwoliło na obiektywną ocenę różnic między grupami mieszanin stabilnych i niestabilnych. Analiza statystyczna umożliwiła identyfikację kluczowych parametrów warunkujących stabilność preparatów oraz określenie istotności statystycznej obserwowanych

różnic. Wszystkie wartości liczbowe zaokrąglono do dwóch miejsc po przecinku, a wyniki przedstawiono w osobnych tabelach dla statystyk opisowych oraz testu U Manna-Whitneya. Przedstawione poniżej wyniki stanowiły podstawę do sformułowania praktycznych wniosków dotyczących optymalizacji procesu przygotowywania i przechowywania domowych mieszanin do żywienia pozajelitowego dla dzieci, ze szczególnym uwzględnieniem aspektów bezpieczeństwa i stabilności długoterminowej.

8.3. Statystyki opisowe oraz test U Manna-Whitneya dla mieszanin stabilnych oraz niestabilnych

Tabela 6. Statystyki opisowe warunk: "mieszaniny stabilne"

	N ważnych	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny kwartył - Górny kwartył
Liczba jonów dwuwartościowych mmol/ 1l mieszaniny	166	8,11	2,54	29,06	6,60-9,91
Liczba jonów jednowartościowych mmol/ 1l mieszaniny	166	54,04	20,86	182,29	43,82-65,60
Wartość CAN	166	581,27	211,87	1975,35	471,06-700,57
Liczba jonów Mg ⁺⁺ mmol/kg mc.	166	0,15	0,04	0,52	0,11-0,19
Liczba jonów Ca ⁺⁺ mmol/kg mc.	166	0,34	0,13	0,93	0,26-0,51
Liczba jonów dwuwartościowych mmol/kg mc.	166	0,54	0,19	1,14	0,39-0,68
Liczba jonów Na ⁺ mmol/kg mc.	166	1,98	0,42	10,14	1,39-2,99
Liczba jonów K ⁺ mmol/kg mc.	166	1,38	0,41	4,14	1,00-1,79
Liczba jonów jednowartościowych mmol/kg mc.	166	3,51	0,90	11,53	2,44-4,78
Liczba P (fosfor) mmol/kg mc.	166	0,28	0,02	1,21	0,16-0,50
Osmolarność (mOsm/l)	166	1132,84	725,37	1556,53	1015,49-1293,26
pH t=24h	166	6,00	5,48	6,27	5,91-6,08
pH t=24h + 24h	166	5,99	5,48	6,23	5,91-6,07
pH t=15 dni	166	6,01	5,44	6,25	5,94-6,08
pH t=15 dni + 24h	166	5,99	5,48	6,25	5,92-6,06
potencjał zeta [mV] t=24h	166	-22,90	-33,00	-13,0	-25,00- -20,79
potencjał zeta [mV] t=24h + 24h	166	-23,40	-32,00	-15,0	-26,00- -22,00
potencjał zeta [mV] t=15 dni	166	-24,05	-35,00	-15,17	-29,00- -21,70
potencjał zeta [mV] t=15 dni + 24h	166	-25,10	-35,00	-16,78	-29,00- -22,30
przewodność t=24h	166	0,10	0,02	0,25	0,08-0,14
przewodność t=24h + 24h	166	0,09	0,02	0,21	0,08-0,12
przewodność t=15 dni	166	0,09	0,0140	0,24	0,03-0,11
przewodność t=15 dni + 24h	166	0,08	0,01	0,21	0,03-0,10
D 0.5 (LD) [nm] t=24h	166	254,00	125,00	298,00	229,00-276,00
D 0.5 (LD) [nm] t=24h + 24h	166	260,00	177,00	304,00	240,00-278,00

D 0.5 (LD) [nm] t=15 dni	166	244,00	151,00	306,00	213,00-273,00
D 0.5 (LD) [nm] t=15 dni + 24h	166	260,00	171,00	307,00	239,00-279,00
D 0.9 (LD) [nm] t=24h	166	457,00	112,00	538,00	444,00-469,00
D 0.9 (LD) [nm] t=24h + 24h	166	459,50	206,00	621,00	448,00-474,00
D 0.9 (LD) [nm] t=15 dni	166	462,00	117,00	691,00	447,00- 476,00
D 0.9 (LD) [nm] t=15 dni + 24h	166	467,00	401,00	534,00	453,00-479,00
Z-Average (PCS) [nm] t=24h	166	237,95	210,00	311,40	231,00-248,70
Z-Average (PCS) [nm] t=24h + 24h	166	241,00	208,00	374,00	235,00-252,00
Z-Average (PCS) [nm] t=15 dni	166	244,00	212,00	427,20	237,00-256,70
Z-Average (PCS) [nm] t=15 dni + 24h	166	242,00	218,00	458,00	238,00-247,50
index polidispersji t=24h	166	0,12	0,01	0,29	0,09-0,14
index polidispersji t=24h + 24h	166	0,12	0,03	0,26	0,09-0,14
index polidispersji t=15 dni	166	0,13	0,02	0,38	0,11-0,16
index polidispersji t=15 dni + 24h	166	0,12	0,04	0,46	0,10-0,14

Tabela 7. **Statystyki opisowe** warunek: "**mieszaniny niestabilne**"

	N ważnych	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny kwartył - Górny kwartył
Liczba jonów dwuwartościowych mmol/ 1l mieszaniny	20	8,91	4,68	25,90	6,278-11,34
Liczba jonów jednowartościowych mmol/ 1 l mieszaniny	20	65,35	29,11	110,54	52,76-92,18
Wartość CAN	20	634,52	328,51	1768,37	456,37-822,28
Liczba jonów Mg ⁺⁺ mmol/kg mc.	20	0,17	0,09	0,54	0,13-0,21
Liczba jonów Ca ⁺⁺ mmol/kg mc.	20	0,39	0,18	1,03	0,26-0,58
Liczba jonów dwuwartościowych mmol/kg mc.	20	0,57	0,28	1,42	0,42-0,73
Liczba jonów Na ⁺ mmol/kg mc.	20	2,23	0,97	8,95	1,62-3,43
Liczba jonów K ⁺ mmol/kg mc.	20	1,87	0,71	5,64	1,23-2,35
Liczba jonów jednowartościowych mmol/kg mc.	20	4,54	1,74	14,59	2,90-5,52
Liczba P (fosfor) mmol/kg mc.	20	0,42	0,09	1,04	0,18-0,50
Osmolarność (mOsm/l)	20	1096,66	733,23	1503,76	943,67-1248,54
pH t=24h	20	5,99	5,87	6,19	5,93-6,07
pH t=24h + 24h	20	6,05	5,89	6,19	5,96-6,11
pH t=15 dni	20	5,99	5,86	6,16	5,95-6,07
pH t=15 dni + 24h	20	6,02	5,90	6,16	5,97-6,08
potencjał zeta [mV] t=24h	20	-22,0	-32,00	-15,00	-27,33- -20,15
potencjał zeta [mV] t=24h + 24h	20	-23,25	-38,00	-17,00	-28,00--21,25
potencjał zeta [mV] t=15 dni	20	-28,50	-40,00	-19,00	-30,50--23,70
potencjał zeta [mV] t=15 dni + 24h	20	-28,50	-33,00	-18,03	-30,50--24,40
przewodność t=24h	20	0,11	0,01	0,22	0,06-0,17
przewodność t=24h + 24h	20	0,10	0,02	0,20	0,05-0,14

przewodność t=15 dni	20	0,04	0,02	0,14	0,03-0,10
przewodność t=15 dni + 24h	20	0,03	0,01	0,17	0,02-0,09
D 0.5 (LD) [nm] t=24h	20	237,00	118,00	280,00	216,00-248,00
D 0.5 (LD) [nm] t=24h + 24h	20	249,50	197,00	288,00	239,00-259,00
D 0.5 (LD) [nm] t=15 dni	20	235,50	171,00	287,00	217,50-255,00
D 0.5 (LD) [nm] t=15 dni + 24h	20	247,00	198,00	286,00	222,00-266,50
D 0.9 (LD) [nm] t=24h	20	450,00	342,00	479,00	436,50-470,50
D 0.9 (LD) [nm] t=24h + 24h	20	462,50	407,00	514,00	448,00-478,00
D 0.9 (LD) [nm] t=15 dni	20	462,00	408,00	508,00	446,00-480,00
D 0.9 (LD) [nm] t=15 dni + 24h	20	475,50	403,00	519,00	444,50-491,50
Z-Average (PCS) [nm] t=24h	20	239,50	215,00	250,00	236,00-246,70
Z-Average (PCS) [nm] t=24h + 24h	20	243,00	210,00	277,20	236,00-250,00
Z-Average (PCS) [nm] t=15 dni	20	238,50	226,00	309,00	234,00-244,00
Z-Average (PCS) [nm] t=15 dni + 24h	20	241,50	224,00	362,00	236,00-245,50
index polidispersji t=24h	20	0,12	0,05	0,14	0,10-0,12
index polidispersji t=24h + 24h	20	0,11	0,02	0,18	0,09-0,15
index polidispersji t=15 dni	20	0,12	0,07	0,23	0,11-0,14
index polidispersji t=15 dni + 24h	20	0,13	0,07	0,27	0,11-0,14

Tabela 8. Test U Manna-Whitneya Wzg.zmienn. STABILNE TAK/NIE Zaznaczone wyniki są istotne z $p < 0.05000$

Test U Manna-Whitneya Wzg.zmienn. STABILNE TAK/NIE Zaznaczone wyniki są istotne z $p < 0.05000$									
	Sum.rang	Sum.rang	U	Z	poziom p	Z	poziom p	N ważn. STAB	N ważn. NIESTAB
Liczba jonów dwuwartościowych mmol/ l l mieszaniny	15427,00	1964,00	1566,00	-0,41	0,68	-0,41	0,68	166	20
Liczba jonów jednowartościowych mmol/ l l mieszaniny	15090,00	2301,00	1229,00	-1,89	0,06	-1,89	0,06	166	20
Wartość CAN	15395,00	1996,00	1534,00	-0,55	0,58	-0,55	0,58	166	20
Liczba jonów Mg ⁺⁺ mmol/kg mc.	15215,00	2176,00	1354,00	-1,35	0,18	-1,35	0,18	166	20
Liczba jonów Ca ⁺⁺ mmol/kg mc.	15323,00	2068,00	1462,00	-0,87	0,38	-0,87	0,38	166	20
Liczba jonów dwuwartościowych mmol/kg mc.	15326,00	2065,00	1465,00	-0,86	0,39	-0,86	0,39	166	20
Liczba jonów Na ⁺ mmol/kg mc.	15325,00	2066,00	1464,00	-0,86	0,39	-0,86	0,39	166	20
Liczba jonów K ⁺ mmol/kg mc.	15049,50	2341,50	1188,50	-2,07	0,04	-2,07	0,04	166	20
Liczba jonów jednowartościowych mmol/kg mc.	15213,00	2178,00	1352,00	-1,35	0,18	-1,35	0,18	166	20
Liczba P (fosfor) mmol/kg mc.	15319,00	2072,000	1458,00	-0,89	0,37	-0,89	0,37	166	20

Osmolarność (mOsm/l)	15724,00	1667,00	1457,00	0,89	0,37	0,89	0,37	166	20
pH t=24h	15521,00	1870,00	1660,00	0,00	1,00	0,00	1,00	166	20
pH t=24h + 24h	15044,00	2347,00	1183,00	-2,09	0,04	-2,09	0,04	166	20
pH t=15 dni	15512,00	1879,00	1651,00	-0,04	0,97	-0,04	0,97	166	20
pH t=15 dni + 24h	15264,50	2126,50	1403,50	-1,13	0,26	-1,13	0,26	166	20
przewodność t=15 dni + 24h	15873,50	1517,50	1307,50	1,54	0,12	1,55	0,12	166	20
potencjał zeta [mV] t=24h	15456,00	1935,00	1595,00	-0,29	0,78	-0,29	0,77	166	20
potencjał zeta [mV] t=24h + 24h	15550,00	1841,00	1631,00	0,13	0,89	0,13	0,89	166	20
potencjał zeta [mV] t=15 dni	16021,00	1370,00	1160,00	2,19	0,03	2,19	0,03	166	20
potencjał zeta [mV] t=15 dni + 24h	15905,50	1485,50	1275,50	1,69	0,09	1,69	0,09	166	20
przewodność t=24h	15295,50	2095,50	1434,50	-0,99	0,32	-0,99	0,32	166	20
przewodność t=24h + 24h	15399,00	1992,00	1538,00	-0,54	0,59	-0,54	0,59	166	20
przewodność t=15 dni	15825,00	1566,00	1356,00	1,34	0,18	1,34	0,18	166	20
przewodność t=15 dni + 24h	15873,50	1517,50	1307,50	1,54	0,12	1,55	0,12	166	20
D 0.5 (LD) [nm] t=24h	16026,50	1364,50	1154,50	2,22	0,03	2,22	0,03	166	20
D 0.5 (LD) [nm] t=24h + 24h	15899,50	1491,50	1281,50	1,66	0,09	1,66	0,09	166	20
D 0.5 (LD) [nm] t=15 dni	15709,50	1681,50	1471,50	0,83	0,41	0,83	0,41	166	20
D 0.5 (LD) [nm] t=15 dnia +24h	15972,00	1419,00	1209,00	1,98	0,05	1,98	0,05	166	20
D 0.9 (LD) [nm] t=24h	15717,50	1673,50	1463,50	0,86	0,39	0,86	0,39	166	20
D 0.9 (LD) [nm] t=24h + 24h	15392,50	1998,50	1531,50	-0,56	0,57	-0,57	0,57	166	20
D 0.9 (LD) [nm] t=15 dni	15434,00	1957,00	1573,00	-0,38	0,70	-0,38	0,70	166	20
D 0.9 (LD) [nm] t=15 dni + 24h	15303,50	2087,50	1442,50	-0,96	0,34	-0,96	0,34	166	20
Z-Average (PCS) [nm] t=24h	15412,00	1979,00	1551,00	-0,48	0,63	-0,48	0,63	166	20
Z-Average (PCS) [nm] t=24h + 24h	15523,00	1868,00	1658,00	0,01	0,99	0,01	0,99	166	20
Z-Average (PCS) [nm] t=15 dni	15993,00	1398,00	1188,00	2,08	0,04	2,08	0,04	166	20
Z-Average (PCS) [nm] t=15 dni + 24h	15679,50	1711,50	1501,50	0,69	0,49	0,69	0,48	166	20
index polidispersji t=24h	15753,00	1638,00	1428,00	1,02	0,30	1,02	0,31	166	20
index polidispersji t=24h + 24h	15593,00	1798,00	1588,00	0,32	0,75	0,32	0,75	166	20
index polidispersji t=15 dni	15623,50	1767,50	1557,50	0,45	0,65	0,45	0,65	166	20
index polidispersji t=15 dni + 24h	15218,50	2172,50	1357,50	-1,33	0,18	-1,33	0,18	166	20