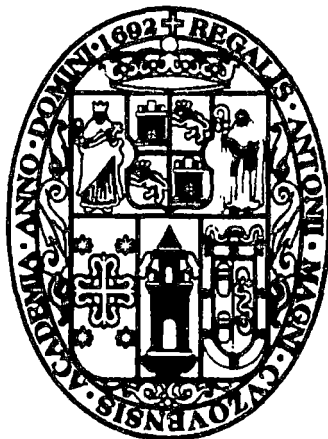


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO
ABAD DEL CUSCO**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS Y MATEMÁTICAS,
CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**DETERMINACIÓN Y COMPARACIÓN DE LA POTENCIA ANTIBIÓTICA,
FRENTE A UN ESTÁNDAR SECUNDARIO, DE CLORANFENICOL
(CÁPSULAS 500 mg Y SUSPENSIÓN ORAL 250 mg/5mL) DE MUESTRAS
ELEGIDAS AL AZAR ENTRE COMERCIALES Y GENERICOS, EXPENDIDOS
EN BOTICAS Y FARMACIAS DE LA CIUDAD DEL CUSCO – 2012**

Tesis presentada por:

Bach. NIEVES ALEJANDRA CAMA TTITO

Bach. ELVIA SHIRLEY COANQUI HUAMAN

Para optar al Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Asesora:

Mgt. TATIANA DEL CASTILLO DE LOAYZA

TESIS AUSPICIADA POR EL CONSEJO DE INVESTIGACIÓN – UNSAAC

**CUSCO – PERÚ
2013**

DEDICATORIA

A Dios.

Por darme la oportunidad de vivir, estar conmigo en cada nuevo paso que doy y por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente.

A mis padres.

Por ser el pilar fundamental en mi educación tanto académica como de la vida, por su gran amor y apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

A mis Hermanos

Por su compañía, su comprensión y sobretodo paciencia.

A mis Familiares.

A mi querida abuelita Emilia, a pesar que pasó mucho tiempo desde tu partida siempre te tengo en mi corazón. A mi abuelito Demetrio y a mis tíos y primos por su cariño y apoyo incondicional.

A mis Docentes

Quienes me han acompañado y guiado durante este largo camino, por brindarme sus conocimientos y apoyarme durante mi formación universitaria.

A mis amigos.

Lourdes, Miriam, Juan David y Franco P. por su siempre grata compañía y comprensión. ¡Gracias, los quiero mucho!

A Shirley

Por haber sido una excelente compañera de tesis y amiga.

NIEVES ALEJANDRA.

DEDICATORIA

A Dios.

Por su infinita bondad y amor, y por haberme permitido llegar hasta este punto y darme salud para lograr mis objetivos.

A mis Padres.

Por los ejemplos de perseverancia y constancia que los caracterizan, valores que me han infundado siempre. Por el valor mostrado para salir adelante, por su apoyo incondicional en todo momento y por sus consejos.

A mi Hermano.

Con quien siempre he contado para todo, gracias a la confianza y amistad que tenemos.

A mis Familiares.

A mis abuelos que siempre me acompañan y guían mi camino, a mis tíos, primos y sobrinos gracias a todos por su amor y apoyo. Siempre están en mi corazón.

A mis maestros.

Por su tiempo, por la sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional.

A mis amigos.

Que encontré durante esta etapa de mi vida gracias por su apoyo, sus consejos y compañía cuando más lo necesitaba.

A Nieves.

Mi compañera de tesis y sobretodo amiga, por creer en mí y motivarme a seguir adelante.

ELVIA SHIRLEY.

AGRADECIMIENTOS

La gratitud es el sentimiento noble del alma generosa que engrandece el espíritu de quienes lo comparten, el agradecimiento profundo nuestro creador por su amor el que nos concede en cada segundo de nuestras vidas.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco, por darnos la oportunidad de alcanzar esta meta.

A la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica.

A la Mgt. Tatiana Del Castillo De Loayza por su asesoramiento y orientación en la realización y culminación del presente trabajo de investigación.

A Laboratorios Naturales y Genéricos NATURGEN S.A.C, en la persona de la Dra. Gladys Sosa Jefa de Control de Calidad, por su colaboración y apoyo en la ejecución del presente trabajo de investigación.

A nuestras familias, amigos y Docentes.

ÍNDICE

I. GENERALIDADES	2
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	3
1.3 OBJETIVOS.....	3
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	3
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	3
1.5 HIPÓTESIS.....	4
II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL	5
2.1 ANTECEDENTES	5
2.1.1 A NIVEL INTERNACIONAL	5
2.1.2 A NIVEL NACIONAL	6
2.1.3 A NIVEL LOCAL	7
2.2 BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS.....	9
2.2.1 ADMINISTRACIÓN DE LA CALIDAD EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA.....	9
2.2.1.1 BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA (BPM).....	9
2.2.1.2 BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO (BPL)	10
2.2.2 VALORACIONES MICROBIOLÓGICAS	10
2.2.2.1 MÉTODO DE CILINDRO-PLACA.....	11
2.2.2.2 MÉTODO TURBIDIMÉTRICO.....	11
2.2.3 ANTIBIÓTICOS.....	11
2.2.3.1 CLASIFICACIÓN.....	12
2.2.3.2 FENICOLES.....	14
2.3 MARCO CONCEPTUAL	22
2.3.1 ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE.....	22
2.3.2 POTENCIA VERDADERA.....	23
2.3.3 POTENCIA ESTABLECIDA O POTENCIA DECLARADA.....	23
2.3.4 POTENCIA ESTIMADA	23
2.3.5 INTERVALO DE CONFIANZA.....	23
2.3.6 USP.....	24
2.3.7 ESTÁNDARES DE REFERENCIA	24
2.3.8 PATRÓN PRIMARIO	24

2.3.9 PATRÓN SECUNDARIO.....	25
2.3.10 MEDICAMENTO GENÉRICO	25
2.3.10 MEDICAMENTO INNOVADOR (ORIGINAL).....	25
2.3.11 MEDICAMENTO DE MARCA.....	26
2.3.12 CEPA.....	26
2.3.13 MICROORGANISMO.....	26
2.3.14 CEPAS CERTIFICADAS (ATCC)	26
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1 MATERIALES.....	27
3.2 METODOLOGÍA.....	31
3.2.1 NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN	31
3.2.3 VARIABLES: DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL	32
3.2.4 POBLACIÓN Y MUESTRA	35
3.2.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	35
3.2.6 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	36
3.2.7 PROCEDIMIENTO	37
3.2.8 TÉCNICAS PARA ANÁLISIS Y PROCESAMIENTO DE DATOS	38
IV. RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	39
4.1 PARA CLORANFENICOL 500 mg (CÁPSULAS).....	39
4.1.1 DÍA 1.....	39
4.1.1.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS.....	39
4.1.1.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR.....	41
4.1.1.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA.....	44
4.1.2 DÍA 2.....	45
4.1.2.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS.....	45
4.1.2.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR.....	47
4.1.2.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA.....	50
4.1.3 DÍA 3.....	51
4.1.3.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS.....	51
4.1.3.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR.....	53
4.1.3.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA.....	56
4.1.4 ANÁLISIS COMPARATIVO DE DATOS (DÍA 1, DÍA 2 Y DÍA 3)	57
4.2 PARA CLORANFENICOL 250 mg/5mL (SUSPENSIÓN ORAL)	63

4.2.1 DÍA 1	63
4.2.1.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS.....	63
4.2.1.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR.....	65
4.2.1.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA.....	68
4.2.2 DÍA 2.....	69
4.2.2.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS.....	69
4.2.2.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR.....	71
4.2.2.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA.....	74
4.2.3 DÍA 3.....	75
4.2.3.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS.....	75
4.2.3.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR.....	77
4.2.3.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA.....	80
4.2.4 ANÁLISIS COMPARATIVO DE DATOS (DÍA 1, DÍA 2 Y DÍA 3)	81
CONCLUSIONES.....	87
SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES.....	88
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
ANEXOS	100

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1: Estructura química de los fenicoles.....	14
---	----

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: Resumen de operacionalización de variables.....	34
TABLA N° 2: Lecturas de absorbancia de los estándares correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de cápsulas.	39
TABLA N° 3: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de cápsulas.	40
TABLA N° 4: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 1 de análisis de las muestras de cápsulas.	41
TABLA N° 5: Resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de cápsulas.	44
TABLA N° 6: Lecturas de absorbancia obtenidas de los estándares correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de cápsulas.....	45
TABLA N° 7: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de cápsulas.	46
TABLA N° 8: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 2 de análisis de las muestras de cápsulas.	47
TABLA N° 9: Resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de cápsulas.	50
TABLA N° 10: Lecturas de absorbancia obtenidas de los estándares correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de cápsulas.	51
TABLA N° 11: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de cápsulas.	52
TABLA N° 12: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 3 de análisis de las muestras de cápsulas.	53
TABLA N° 13: Resumen de los resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de cápsulas.	56
TABLA N° 14: Análisis de Varianza para % de potencia antibiótica de las muestras de cápsulas evaluadas los días 1, 2 y 3.	57
TABLA N° 15: Medias del % de potencia antibiótica de las muestras de cápsulas por muestra.	58
TABLA N° 16: Medias de % de potencia antibiótica de las muestras de cápsulas por día. ...	59
TABLA N° 17: Medias del % de potencia antibiótica de muestras de cápsulas por día y muestra.	60
TABLA N° 18: Lecturas de absorbancia de los estándares correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.....	63
TABLA N° 19: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.....	64
TABLA N° 20: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.	65
TABLA N° 21: Resumen de los resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.....	68
TABLA N° 22: Lecturas de absorbancia de los estándares correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de suspensión oral.....	69
TABLA N° 23: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de suspensión oral.....	70
TABLA N° 24: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 2 de análisis de las muestras de suspensión oral.	71
TABLA N° 25: Resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de suspensión oral.	74
TABLA N° 26: Lecturas de absorbancia de los estándares correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de suspensión oral.....	75

TABLA N° 27: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de suspensión oral.....	76
TABLA N° 28: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 3 de análisis de las muestras de suspensión oral.	77
TABLA N° 29: Resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de suspensión oral.	80
TABLA N° 30: Análisis de Varianza para % de potencia antibiótica de las muestras de suspensión oral evaluadas los días 1, 2 y 3.	81
TABLA N° 31: Medias del % de potencia antibiótica de las muestras de suspensión oral por muestra.	82
TABLA N° 32: Medias del % de potencia antibiótica de las muestras de suspensión oral por día.	83
TABLA N° 33: Medias del % de potencia antibiótica de muestras de suspensión oral por día y muestra.	84

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1: Del modelo ajustado correspondiente al Día 1 de análisis de las muestras de cápsulas.....	43
GRÁFICO N° 2: Del modelo ajustado correspondiente al Día 2 de análisis de las muestras de cápsulas.....	49
GRÁFICO N° 3: Del modelo ajustado correspondiente al Día 3 de análisis.....	55
GRÁFICO N° 4: Medias del % de potencia antibiótica de muestras de cápsulas por día y muestra.....	61
GRÁFICO N° 5: Medias del % de potencia antibiótica de cápsulas por muestra.....	62
GRÁFICO N° 6: Del modelo ajustado correspondiente al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.....	67
GRÁFICO N° 7: Del modelo ajustado correspondiente al Día 2 de análisis de las muestras de suspensión oral.....	73
GRÁFICO N° 8: Del modelo ajustado correspondiente al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.....	79
GRÁFICO N° 9: Medias de muestras de suspensión oral por día y muestra.....	85
GRÁFICO N° 10: Muestras de suspensión oral por muestra.....	85

LISTADO DE ANEXOS

- ANEXO N° 1:** Antibióticos – Valoraciones Microbiológicas.
- ANEXO N° 2:** Laboratorios productores de cloranfenicol cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL a nivel nacional.
- ANEXO N° 3:** Laboratorios productores de cloranfenicol cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL expendidos en la ciudad de Cusco.
- ANEXO N° 4:** Calidad de los Medicamentos.
- ANEXO N° 5:** Alertas DIGEMID.
- ANEXO N° 6:** Constancia de Laboratorios Naturgen S.A.C.
- ANEXO N° 7:** Certificado del estándar secundario de cloranfenicol.
- ANEXO N° 8:** Certificado de la Cepa de *Escherichia coli* ATCC 10536.
- ANEXO N° 9:** Certificado del medio antibiótico N° 1.
- ANEXO N° 10:** Certificado del medio antibiótico N° 3.
- ANEXO N° 11:** Procedimiento.
- ANEXO N° 12:** Cálculos para la determinación del porcentaje de potencia antibiótica de cápsulas.
- ANEXO N° 13:** Cálculos para la determinación del porcentaje de potencia antibiótica de suspensión oral.
- ANEXO N° 14:** Fotografías de las pruebas.

RESUMEN

La presente investigación se basó en la ejecución de una técnica de análisis de control de calidad referido a la determinación de la potencia antibiótica por turbidimetría de muestras comerciales y genéricas del antibiótico cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/mL) expendidas en boticas y farmacias de la ciudad del Cusco – 2012.

Específicamente se determinó y comparó la potencia antibiótica de las diversas muestras de cloranfenicol frente a un estándar secundario (cloranfenicol 98.45% Lote: CH11492). El estudio estuvo enmarcado en el tipo de investigación descriptivo, transversal, correlacional y prospectivo.

El método empleado fue el método turbidimétrico que se basa en la inhibición del crecimiento del microorganismo de prueba (*Escherichia coli* ATCC 10536) en una solución uniforme del antibiótico en un medio fluido que favoreció su crecimiento en ausencia del antibiótico y fue adaptado de la Farmacopea de los Estados Unidos vigente (USP-35/NF-30).

Para el cumplimiento de los objetivos planteados el análisis se desarrolló en un ambiente adecuado y seguro. La potencia del antibiótico en estudio se calculó mediante la interpolación de la recta estándar obtenida por transformación logarítmica y ajustada por mínimos cuadrados.

Como resultados de la valoración se obtuvieron 103.54%, 114.94%, 95.41% 116.43% y 108.89% de potencia antibiótica para las muestras de cápsulas y 104.14% y 116.77% de potencia antibiótica para las muestras de suspensión oral.

En conclusión, al finalizar este estudio se lograron obtener resultados satisfactorios y concordantes con las especificaciones del porcentaje de potencia antibiótica de cloranfenicol referidas en la Farmacopea mencionada, que indica que tanto para cápsulas como para suspensión oral no debe ser menor que el 90% ni mayor que el 120%.

Palabras clave: *Potencia antibiótica. Método turbidimétrico. Cloranfenicol. Escherichia coli ATCC 10536.*

ABSTRACT

This research was based on performing the quality control of commercial and generic samples of the antibiotic Chloramphenicol (500 mg capsules and oral suspension 250 mg/mL) sold in drugstores and pharmacies of the Cusco city - 2012.

Specifically it was determined and compared the antibiotic potency of the various samples of Chloramphenicol against a secondary standard (chloramphenicol 98.45% Lot: CH11492). The study was framed in a descriptive, cross, correlational and prospective research type.

The method is based on the inhibition of growth of the test microorganism (*Escherichia coli* ATCC 10536) in a uniform solution of the antibiotic in a fluid medium which favors growth in the absence of antibiotic and was adapted from the current American Pharmacopoeia (USP-35/NF-30).

To fulfill the objectives, the analysis was performed in a proper and safe ambient. The potency of the antibiotic in study was calculated by the interpolation of the standard line and logarithmic transformation obtained by least squares adjustment.

As a results of the assessment were obtained 103.54%, 114.94%, 116.43% 95.41% 108.89% of antibiotic potency for capsules samples and 104.14% and 116.77% of antibiotic potency for oral suspension samples.

In conclusion, at the end of this study were obtained satisfactory and consistent results which accorded with the percentage of chloramphenicol antibiotic potency referred in the Pharmacopoeia mentioned above, which indicates that for both capsules and powder for suspension to be not less than 90% and nor more than 120%.

Keywords: *Antibiotic potency. Turbidimetric method. Chloramphenicol. Escherichia coli ATCC 10536.*

INTRODUCCIÓN

Los constantes avances de la medicina y la farmacología han generado la producción a nivel industrial de una gran cantidad de los medicamentos que resultan de inmensa utilidad, por ello, una de las características más importantes de toda Industria Farmacéutica es avalar la calidad de sus productos, ya que de ésta dependerá tanto el prestigio como el desarrollo económico y el crecimiento de la misma (GENNARO, 2003).

Por lo cual, es de trascendental importancia garantizar la efectividad de todos los medicamentos y además, en el caso de los antibióticos verificar la actividad que presentan ante los microorganismos que se pretenden combatir. Una forma de verificar dicha actividad antimicrobiana es determinando la potencia antibiótica, que puede ser demostrada mediante el efecto inhibitorio del crecimiento de un microorganismo sensible a la sustancia en cuestión (QUEVEDO, 2004).

El antibiótico cloranfenicol es una droga bacteriostática que es utilizada desde 1950 para combatir un amplio rango de infecciones microbianas y sigue siendo útil en el tratamiento de fiebre tifoidea, meningitis e infecciones en el sistema nervioso central, entre otras (GOMEZ-LUS, CALVO y PRIETO, 2008).

De otra parte, los medicamentos genéricos han creado una gran discusión en torno a su competencia con los medicamentos comerciales. Al consumidor, (o sea a todos nosotros), nos llegan a través de los medios versiones muy distorsionadas sobre los beneficios y las desventajas de la utilización de aquellos. En esto juega un papel muy importante la desinformación que existe sobre el tema (SANTORO, 2009)

Haciendo uso del método turbidimétrico establecido en la Farmacopea de los Estados Unidos vigente (USP-35/NF-30) que consiste en la inhibición del crecimiento de un cultivo microbiano en una solución uniforme del antibiótico en un medio líquido favorable para su rápido crecimiento en ausencia del antibiótico, se determinará y verificará que las muestras del antibiótico cloranfenicol empleadas en este estudio cumplan con las especificaciones de calidad básicas en lo que respecta a potencia antibiótica.

I. GENERALIDADES

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los antibióticos son sustancias obtenidas a partir del metabolismo microbiano para matar o inhibir el crecimiento de otros microorganismos, por ello constituyen un bien esencial para el ser humano en la prevención y cura de infecciones (MORA, 2007).

Entonces, es de trascendental importancia garantizar a la población su calidad y eficacia frente a los microorganismos que se pretenden combatir. Una de las pruebas más importantes para el control de calidad de antibióticos consiste en la determinación de potencia antibiótica.

Como una de sus acciones de control y vigilancia sanitaria, la Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID), identificó lotes de cloranfenicol que no se ajustan a las especificaciones técnicas autorizadas en cuanto al contenido, el mismo que fue determinado por técnica cromatográfica (DIGEMID-MINSA, 2012).

En vista de esto surge la necesidad de realizar un análisis de control de calidad respecto a la potencia antibiótica de este fármaco empleando un método de valoración microbiológica establecido por la Farmacopea de los Estados Unidos vigente, el cual no se encuentra muy difundido (Método Turbidimétrico).

Por lo cual, en este trabajo se busca determinar y comparar la potencia antibiótica de diversas muestras de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL) tanto comerciales como genéricas expedidas en la ciudad de Cusco – 2012, frente a un estándar de referencia.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cumplirán con los parámetros de potencia antibiótica establecidos por la Farmacopea de los Estados Unidos vigente (USP-35/NF-30) las muestras comerciales y genéricas de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL), expandidas en boticas y farmacias de la ciudad de Cusco – 2012, frente a un estándar secundario?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar y comparar la potencia antibiótica de muestras comerciales y genéricas de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL) expandidas en boticas y farmacias de la ciudad de Cusco – 2012, frente a un estándar secundario.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la potencia antibiótica de muestras comerciales y genéricas de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL).
- Comparar la potencia antibiótica de muestras comerciales y genéricas de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL) frente a un estándar secundario.

1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

La importancia de realizar este estudio radica en verificar y demostrar que la potencia antibiótica de las muestras de cloranfenicol analizadas cumplan con las especificaciones establecidas por la Farmacopea de los Estados Unidos vigente (USP-35/NF-30) en cuanto a potencia antibiótica se refiere, lo que a su vez implica tener la dosis adecuada del principio activo y consiguientemente se obtuvo el efecto terapéutico esperado, garantizándose de esta manera la eficacia del medicamento.

En lo social, para todos los medicamentos, especialmente los antibióticos, es indispensable garantizar su eficacia y calidad, pues de lo contrario se pone en riesgo la salud del paciente (MORA, 2007). Este estudio permitirá brindar a los prescriptores profesionales de la salud y consumidores en general, la confianza de que el producto farmacéutico cloranfenicol que utilizan es eficaz y de calidad.

En lo económico, se analizaron muestras de cloranfenicol tanto comerciales como genéricas y se hizo la comparación de los resultados con los valores establecidos en la Farmacopea de los Estados Unidos vigente (USP-35/NF-30).

1.5 HIPÓTESIS

Las muestras comerciales y genéricas de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL) comercializadas en boticas y farmacias de la ciudad de Cusco – 2012, cumplen con los parámetros de potencia antibiótica establecidos por la Farmacopea de los Estados Unidos vigente (USP-35/NF-30) frente a un estándar secundario.

II. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 A NIVEL INTERNACIONAL

MORA MEZA, J. D. "IMPLEMENTACIÓN Y DESARROLLO DE LA TÉCNICA DE POTENCIA MICROBIOLÓGICA DE ANTIBIÓTICOS Y SU IMPACTO EN LA EMPRESA CALOX DE COSTA RICA S.A.". Instituto Tecnológico de Costa Rica Escuela de Biología – 2007. Tesis para optar al Título de Ingeniería en Biotecnología. Cartago.

En este trabajo se estandarizó la metodología para dicha prueba y analizar la factibilidad de implementación por parte de una industria farmacéutica, Calox de Costa Rica, S.A. Para esto, se utilizó el método Cilindro-Placa basado en la metodología de la U.S. Pharmacopeia (USP). En este caso se pretendió estudiar la actividad de gentamicina y neomicina en producto terminado y para este fin se usó la bacteria *Staphylococcus epidermidis*.

Como parte del procedimiento, un análisis estadístico comprobó la validez de los resultados y se determinó el porcentaje de potencia de la muestra mediante una comparación con un estándar de referencia de alta pureza. Para los productos con neomicina fue posible obtener resultados concluyentes que muestran que solo el Calox-Dry estuvo fuera de la especificación USP (80-125%). Para el producto con gentamicina no se logró la estandarización de la metodología dado la falta de resultados, pese a la incorporación de variables al procedimiento.

Finalmente se determinó que si bien la prueba no es complicada, técnicamente el Laboratorio de Control de Calidad de la empresa no se encuentra en condiciones óptimas para sustituir los envíos a laboratorios externos, principalmente por la falta de equipo adecuado para el montaje y evaluación del ensayo. A pesar de esto, el aspecto económico es bastante favorable pues aunque en el trabajo no se considera en costo por mano de obra la inversión inicial para la implantación de la prueba es fácilmente recuperable en poco tiempo.

PEDRAZA ARIAS, P. N. Y CASTELLANOS RIVERA, H.J. “ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES PRESENTACIONES COMERCIALES DE ANTIBIÓTICOS DE ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA A TRAVÉS DE MÉTODOS IN VITRO”. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Industrial y Carrera de Bacteriología. Tesis para optar al Título de Microbióloga y Bacteriología – 2009. Bogotá.

En este trabajo, se desarrollaron ensayos para la valoración del antibiótico Cefoperazona - Sulbactam a partir del método de difusión en gel, donde se estableció el microorganismo *Bacillus subtilis* ATCC 6633 como modelo experimental para la ejecución de los ensayos, teniendo en cuenta características como tiempo de incubación, crecimiento del inóculo, zona de inhibición como respuesta a determinadas concentraciones del antibiótico.

A partir de la validación de la metodología y la realización de potencia relativa, se realizó un estudio de comparación de muestras de productos estándar USP, genéricos y de marca, que dio como resultado que presentan la misma actividad antimicrobiana mediante métodos in vitro y así mismo se confirmó que son bioequivalentes.

2.1.2 A NIVEL NACIONAL

MORALES, J. Y URQUIZO, S. “VALORACIÓN DEL CLORANFENICOL Y SUS ESTERES EN ESPECIALIDADES FARMACÉUTICAS”. División de Control Técnico del Instituto Nacional de Salud – 2012. Lima.

En la presente comunicación se expusieron dos métodos utilizados para la valoración del cloranfenicol (CAF) y sus ésteres cuando ellos están presentes en especialidades farmacéuticas: uno el método espectrofotométrico, y otro el microbiológico de la Placa-disco-cultivo que requiere, para el caso de los ésteres, hidrólisis previa de las sales.

Con ambos se obtuvieron resultados satisfactorios, teniendo el segundo, la ventaja de hacer conocer, además de la concentración, la actividad antimicrobiana

de los diversos compuestos, lo que no es posible precisar por el método espectrofotométrico.

CÁRDENAS SIFUENTES, D.M. Y ASENCIOS JUÁREZ D.G. “EVALUACIÓN DE UN MÉTODO DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO PARA DETERMINAR LA POTENCIA ANTIBIÓTICA DE TILOSINA”. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento Académico de Microbiología y Parasitología Aplicada. Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico – 2008. Lima.

En el presente trabajo se determinó experimentalmente la potencia antibiótica de la Tilosina tartrato, mediante una metodología alternativa de valoración microbiológica a la descrita en la USP 30.

El método “turbidimétrico” referido en la USP 30 para la valoración de la potencia antibiótica de Tilosina en las condiciones del laboratorio no fue el más óptimo, debido a que mostró dificultad en su ejecución y variabilidad en las mediciones de las lecturas de las respuestas frente a un sistema biológico.

Por tanto, se evaluó otras metodologías y parámetros del ensayo hasta encontrar un método y condiciones que ofrezcan a los laboratorios veterinarios una opción alternativa, sensible, específica y reproducible para la valoración de potencia antibiótica de Tilosina.

2.1.3 A NIVEL LOCAL

PAREJA AIVAR, L. “DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE GENTAMICINA EN UN PRODUCTO FARMACÉUTICO EN CREMA POR POTENCIA ANTIBIÓTICA”. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Departamento Académico de Farmacia. Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico – 2012. Cusco.

Este estudio se realizó con la finalidad de desarrollar y validar un método analítico para la cuantificación de gentamicina en un producto farmacéutico en crema por potencia antibiótica.

Se realizaron ensayos en el laboratorio para obtener la curva patrón y comparar con las muestras determinando así las concentraciones respectivas, utilizando soluciones estándar de gentamicina a diferentes concentraciones de las cuales se obtuvo sus respectivas lecturas de halos de inhibición para obtener la curva patrón.

Se logró determinar que el método es exacto, ya que los resultados obtenidos nos dan un porcentaje de recuperación del 100%, un sesgo de 0.19% inferior al 3%, homogeneidad de varianzas de 0.73 resultado mayor al 0.50 de la especificación y por último obtenemos que el t -experimental es menor al t -tablas, cumpliendo con todos los parámetros establecidos para determinar la exactitud del método.

Se consiguió desarrollar la técnica analítica para la cuantificación de la concentración del principio activo gentamicina por el método de potencia antibiótica en un producto farmacéutico bajo la forma de crema.

GARCÍA PEÑA, Y.S. "ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO INVITRO DE AMOXICILINA DE NOMBRE GENÉRICO Y DE MARCA COMERCIAL FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus pyogenes* Y *Streptococcus pneumoniae* ATCC Y AISLADAS DE PACIENTES". Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Departamento Académico de Farmacia. Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico – 2006. Cusco.

Este estudio se realizó con la finalidad de comparar el efecto antibacteriano in vivo producido por la Amoxicilina de nombre genérico y de marca comercial frente a bacterias causantes de infecciones respiratorias.

El efecto antibacteriano se evaluó por el método de difusión en placa en 42 cepas de *Streptococcus pyogenes* y 07 cepas de *Streptococcus pneumoniae* aisladas de pacientes y en cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 y de

Streptococcus pneumoneae ATCC 49619 empleando como control el disco de sensibilidad estándar.

Se seleccionó para el estudio cuatro Amoxicilinas de marca comercial y cuatro de nombre genérico.

Se concluyó que Amoxicilina de marca comercial y Amoxicilina genérica presentan igual efecto antibacteriano en relación al disco de sensibilidad estándar.

2.2 BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS

2.2.1 ADMINISTRACIÓN DE LA CALIDAD EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

En la Industria Farmacéutica en general, la administración de la calidad es un aspecto de la función administrativa ligado a la ejecución de las políticas de la calidad de la empresa.

Los elementos básicos de la administración de la calidad son los siguientes:

- Sistema de calidad que comprende la estructura, procedimientos, procesos y recursos.
- Garantía de la calidad, concepto que involucra las medidas que se adoptan para asegurar que el producto satisface determinadas condiciones de calidad.

Los conceptos de garantía de la calidad, Buenas Prácticas de Manufactura, Buenas Prácticas de Laboratorio y Control de Calidad, constituyen aspectos de la administración de la calidad y se relacionan entre sí (JURAN, 2004).

(VER ANEXO N° 4).

2.2.1.1 BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA (BPM)

Dentro del concepto de garantía de la calidad, las Buenas Prácticas de Manufactura constituyen el factor que asegura que los productos se fabriquen en forma uniforme y controlada, de acuerdo con las normas de calidad adecuadas al uso que se pretende dar a los productos, y conforme a las condiciones exigidas para su comercialización (MINSA, 2009).

2.2.1.2 BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO (BPL)

Son normas y procedimientos de operación oficiales considerados como requerimientos mínimos para promover la calidad e integridad de un producto. Las Buenas Prácticas de Laboratorio nacen de la necesidad de contar con datos analíticos de confianza y un seguimiento de todo el proceso, para poder juzgar sobre la seguridad de un producto. Las Buenas Prácticas de Laboratorio, pretenden promocionar la calidad y validez de los datos de los análisis (MINSA, 2009).

2.2.2 VALORACIONES MICROBIOLÓGICAS

En la evaluación de potencia y pureza para las sustancias antibióticas el efecto medido es la inhibición del crecimiento de una cepa apropiada de microorganismos, o sea, la prevención de la multiplicación de los microorganismos de prueba. Los procedimientos empleados en el ensayo microbiano de los antibióticos pueden dividirse en dos clasificaciones amplias; el método de cilindro-placa y el método turbidimétrico (SNITKOFF, 2012).

Bajo las condiciones adecuadas, la actividad (potencia) de los antibióticos puede demostrarse por su efecto inhibitor sobre los microorganismos. La reducción en la actividad antimicrobiana también revela cambios sutiles no comprobables mediante métodos químicos. En consecuencia, las valoraciones microbiológicas o biológicas siguen siendo, por lo general, el estándar para disipar dudas en cuanto a la posible pérdida de actividad (MAY, GIBBS, KARREN, PRABHAKAR SHINDE, y SULLIVAN, 2011).

Se utilizan dos métodos generales: la valoración en cilindro-placa o "en placa" y la valoración turbidimétrica o "en tubo". El primer método se basa en la difusión del antibiótico desde un cilindro vertical a través de una capa de agar solidificado en un plato o placa de Petri hasta inhibir totalmente el crecimiento del microorganismo añadido, en un área circular o "zona de inhibición" en torno al cilindro que contiene una solución del antibiótico. El método turbidimétrico se basa en la inhibición del crecimiento de un cultivo microbiano en una solución uniforme del antibiótico en un medio líquido que promueva su rápido crecimiento en ausencia del antibiótico (MAY, GIBBS, KARREN, PRABHAKAR SHINDE, y SULLIVAN, 2011).

2.2.2.1 MÉTODO DE CILINDRO-PLACA

El ensayo de cilindro-placa para medir la potencia del antibiótico se basa en la medición del diámetro de zonas de inhibición de crecimiento bacteriano que rodea a cilindros que contienen distintas diluciones del compuesto de prueba, las cuales se colocan sobre la superficie de un medio nutritivo sólido inoculado previamente con un cultivo de microorganismo adecuado. La inhibición producida por el compuesto de ensayo se compara con la producida por concentraciones conocidas de un estándar conocido (SNITKOFF, 2012)

2.2.2.2 MÉTODO TURBIDIMÉTRICO

El ensayo turbidimétrico de potencia antibiótica (**VER ANEXO N° 1**) se basa en la inhibición del crecimiento microbiano indicada por la medición de la turbidez (transmitancia) de suspensiones de un microorganismo apropiado en un medio líquido al cual se le han agregado cantidades graduadas del compuesto a ensayar. Los cambios de transmitancia producidos por el compuesto de prueba se comparan con los producidos por los producidos por concentraciones conocidas del material de referencia (SNITKOFF, 2012).

2.2.3 ANTIBIÓTICOS

Se denomina antibiótico a cualquier sustancia química producida por un microorganismo, utilizada para eliminar o inhibir el crecimiento de otros microorganismos infecciosos. Una propiedad común a todos los antibióticos es la toxicidad selectiva: presentan una toxicidad hacia los organismos invasores superior a la que muestran frente a animales o seres humanos (GOMEZ-LUS M. L., CALVO A. y PRIETO J.; 2008).

El término antibiótico, designa una preparación medicinal que contiene una cantidad importante de una sustancia química que es producida por un microorganismo, o artificialmente por síntesis, y que tiene la capacidad de inhibir o destruir microorganismos en solución diluida (SNITKOFF, 2012).

Los antibióticos difieren en cuanto a sus propiedades físicas, químicas y farmacológicas, su espectro antimicrobiano y mecanismo de acción (BRUNTON, LAZO y PARKER, 2007).

2.2.3.1 CLASIFICACIÓN

Los criterios de clasificación son diversos, lo que origina varias claves que han permitido agruparlos según la estructura química, el espectro de actividad, el efecto antimicrobiano y el mecanismo de acción (GOMEZ-LUS M. L., CALVO A. y PRIETO J.; 2008).

- **Por su estructura:**
 - B- lactámicos
 - Tetraciclinas
 - Quinolonas
 - AminoglucoSIDOS
 - Glucopéptidos
 - Macrobios, etc.

- **Por su espectro de acción:**
 - Amplio espectro
 - Menos amplio o intermedio
 - Reducido

- **Por su efecto antimicrobiano:**
 - Bacteriostático: bloquean el desarrollo y la multiplicación de las bacterias pero no las lisan tiene efecto reversible.
 - Bactericidas: generan muerte bacteriana produciendo un efecto irreversible.

- **Por su mecanismo de acción:**

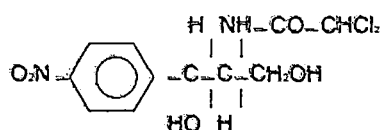
- Inhibición de la síntesis de la pared celular: son bactericidas, generando la lisis de la célula el cual se puede dar en una de sus 4 etapas:
 - Formación del precursor en el citoplasma
 - Transporte del precursor a través de la membrana
 - Transformación del polímero lineal
 - Transpeptidación
- Alteración de la función de la membrana celular:
 - Polimixinas: se comportan como detergentes catiónicos incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática generando la pérdida de metabolitos esenciales.
 - Polienos: Se fijan a la parte lipófila de la membrana bacteriana alterando su integridad e incluso inhiben la biosíntesis de lípidos de la membrana como el ergosterol.
- Inhibición de la síntesis proteica: se puede dar en uno de los siguientes procesos:
 - Iniciación
 - Elongación
 - Terminación
- Inhibición de síntesis o función de los ácidos nucleicos: que se puede dar por tres formas:
 - Por interferencia en la replicación del ADN
 - Impidiendo la transcripción
 - Por inhibición de síntesis de metabolitos esenciales

2.2.3.2 FENICOLES

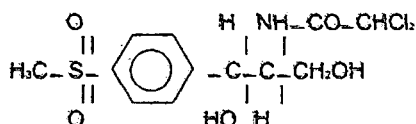
2.2.3.2.1 ORIGEN Y CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

La denominación de fenicoles incluye tres fármacos, el cloranfenicol, el tianfenicol y el florfenicol, derivados del ácido dicloroacético (VER FIGURA N° 1). El cloranfenicol posee un grupo nitro en posición para del anillo bencénico; este grupo es sustituido por otro sulfometil en el tianfenicol; finalmente, manteniendo el grupo sulfometil en posición para del anillo bencénico pero introduciendo un átomo de flúor en la función del alcohol primario terminal en el tianfenicol, surge el florfenicol (RÍOS, 2004).

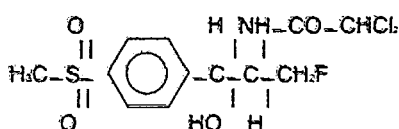
FIGURA N°1: Estructura química de los fenicoles.



Cloranfenicol



Tianfenicol



Florfenicol

FUENTE: Obtenido de "Biodisponibilidad y metabolismo de un derivado fluorado del tianfenicol en pollos Broiler" (Ríos, 2004).

Los tres antibióticos: cloranfenicol, tianfenicol y florfenicol, en la actualidad se obtienen por síntesis química. Forman una familia de compuestos antimicrobianos sintéticos de gran utilidad en el tratamiento de infecciones bacterianas. Caracterizados por su amplio espectro de acción y buena distribución orgánica, cada uno de ellos ha tenido una evolución muy particular en lo que a su uso terapéutico se refiere a lo largo del tiempo (RÍOS, 2004)

2.2.3.2.2 CLORANFENICOL

El cloranfenicol es un antibiótico producido por *Streptomyces venezuelae*, un microorganismo aislado por primera vez por Burkholder en 1947 de una muestra de suelo tomada en Venezuela, se comprobó que los filtrados de cultivos líquidos de los microorganismos poseían marcada efectividad contra las bacterias Gram Negativas. Bartz en 1948 aisló una sustancia antibiótica cristalina a la que llamó cloromecetina porque contenía cloro y se obtuvo de un actinomiceto. En 1948 el cloranfenicol se producía en cantidades suficientes para su uso clínico general, luego se comprobó que era útil en el tratamiento de diversas infecciones. Sin embargo, la aparición de cepas ampicilinoresistentes y el mayor conocimiento de las bacterias anaerobias aumentó su uso (DÍAZ, 2005).

Es una molécula con un núcleo nitrobenzeno, que se obtuvo por síntesis como paranitrofenil-aminopropnediol. Es un antimicrobiano bacteriostático que inhibe la síntesis proteica. Se fija de forma esteroespecífica a las subunidades ribosómicas 50S, impidiendo la transpeptidación entre los aminoácidos de la cadena peptídica. La resistencia al cloranfenicol está mediada por la producción de una enzima cloranfenicol acetiltransferasa, que cataliza la adhesión de grupos aceto a la molécula del antibiótico (GOMEZ-LUS M. L., CALVO A. y PRIETO J.; 2008).

El cloranfenicol cuya fórmula empírica es $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, posee un peso molecular de 323,14. Es una molécula neutra, muy soluble en metanol, etanol, butanol, etilacetato y acetona. Posee una solubilidad media en éter y es insoluble en benceno y aceites vegetales. Presenta un sabor amargo, por ello en su administración oral, además de utilizarse su base libre, se utiliza esterificado en forma de palmitato (éster de palmitato), profármaco inactivo que enmascara su sabor. Para su administración parenteral se utiliza su sal succinato (monosuccinato sódico), éster hidrosoluble (RÍOS, 2004).

MECANISMO DE ACCIÓN

Las primeras investigaciones con el cloranfenicol señalaron que su mecanismo de acción se basa en una potente, aunque reversible, inhibición de la

biosíntesis de proteínas en los microorganismos actuando sobre el centro peptidiltransferasa del ribosoma bacteriano (RÍOS, 2004).

El cloranfenicol penetra fácilmente en las células bacterianas probablemente por un mecanismo de difusión facilitada. Actúa principalmente ligándose reversiblemente a la subunidad ribosomal 50S, posee un espectro bastante amplio de actividad antimicrobiana (DÍAZ, 2005).

El cloranfenicol se une a la subunidad 50S y altera la fijación del aminoácido (situado al extremo del complejo aminoacil-ARNt) a su sitio correspondiente; como consecuencia, la enzima peptidiltransferasa no puede actuar sobre su sustrato (el aminoácido citado) y se detiene la formación del péptido. Esto se traduce en un efecto bacteriostático para muchos gérmenes, aunque el cloranfenicol ejerce un efecto bactericida frente a algunos patógenos especialmente sensibles como *H. influenzae*, *S. pneumoniae* y *N. meningitidis* (GOMEZ-LUS M. L., CALVO A. y PRIETO J.; 2008).

De este modo, y aunque aparentemente no hay alteración de la unión del ARN de transferencia en el codón de reconocimiento de la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, los fenicoles, parecen impedir la unión aminoacil del ARN de transferencia al lugar de unión de la subunidad 50S del ribosoma bacteriano. La consecuencia de esto es la ausencia de interacción entre la peptidiltransferasa y su sustrato aminoacídico, impidiéndose así la formación del enlace peptídico y, por tanto, la síntesis proteica de los microorganismos (RÍOS, 2004).

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro. Inhibe el crecimiento bacteriano de una gran variedad de bacterias aerobias y anaerobias grampositivas y gramnegativas, rickettsias, clamidias, bartonelas y espiroquetas. Este antibiótico conserva buena actividad frente a las salmonelas, incluida *S. typhi*, a pesar de que existen cepas resistentes. Los tres microorganismos que con mayor frecuencia producen meningitis en la infancia (*H. influenzae*, *S. pneumoniae* y *N. meningitidis*) son muy sensibles al cloranfenicol. Asimismo, el cloranfenicol posee muy buena actividad frente a las bacterias anaerobias, incluido *Bacteroides fragilis* (GOMEZ-LUS M. L., CALVO A. y PRIETO J.; 2008).

RESISTENCIA BACTERIANA

Las bacterias desarrollan resistencias al cloranfenicol y se vuelven impermeables al fármaco o producen una enzima, la acetiltransferasa, que lo acetila a un derivado inactivo (GOMEZ-LUS M. L., CALVO A. y PRIETO J.; 2008).

El mecanismo de resistencia bacteriana más importante es la elaboración de enzimas inactivantes. Se trata de acetiltransferasas capaces de acetilar al cloranfenicol utilizando como fuente la acetilcoenzima A y transformarlo en derivados inactivos. Este mecanismo de resistencia es extracromosómico y está mediado por plásmidos constitutivos en el caso de algunos bacilos gramnegativos, e inducibles en el de cocos grampositivos. Existe también resistencia cromosómica consistente en impermeabilidad de la bacteria para el antibiótico (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

Las bacterias con mayor tasa de resistencia pertenecen a la familia de bacilos gramnegativos: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Pseudomona aeruginosa* (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

FARMACOCINÉTICA

Puede administrarse por vía oral, puesto que tras su absorción alcanza niveles plasmáticos adecuados. El cloranfenicol puede administrarse en forma de esteropalmitato, profármaco inactivo que sufre hidrólisis en el duodeno por acción de la lipasa pancreática, permitiendo la absorción del antibiótico. Ésta suele ser completa, lo que justifica que los niveles conseguidos tras la administración por esta vía sean iguales a los obtenidos tras administrar la misma dosis por vía IV. La absorción de cloranfenicol no esterificado es también completa y puede superar a la del esteropalmitato (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

La difusión de estos antibióticos es muy elevada, alcanzando concentraciones activas en casi todos los órganos y líquidos corporales, incluidos el LCR (60-80 % de la concentración plasmática sin relación con la inflamación meníngea), el humor acuoso, el tejido prostático, la sangre fetal, etc. (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

Se une a las proteínas plasmáticas en un 25-50 % y aún menos en pacientes con cirrosis y en recién nacidos. Su alta liposolubilidad, escasa unión a proteínas plasmáticas y bajo peso molecular explican que los niveles conseguidos en el LCR sean bastante más altos que los que se consiguen con la mayoría de antibióticos, del 30-50 % de las concentraciones plasmáticas, aun sin inflamación meníngea; además, este agente se acumula en el tejido encefálico, donde puede alcanzar concentraciones muy superiores a las plasmáticas. También se consiguen concentraciones terapéuticas en los líquidos pleural, ascítico y sinovial y, cuando se administra por vía tópica, en el humor acuoso. El antibiótico atraviesa la placenta y accede a la circulación fetal (GOMEZ-LUS M. L., CALVO A. y PRIETO J.; 2008).

Se elimina a través de metabolismo hepático mediado por componentes del sistema microsómico y, concretamente, mediante conjugación con ácido glucurónico por la intervención de la glucuroniltransferasa. Además sufre otras transformaciones: nitrorreducción, acetilación, etc. Los metabolitos que carecen de actividad antibacteriana son eliminados en parte por la bilis, sufriendo circulación enterohepática que justifica su escasa eliminación por las heces. La semivida es de unas 4 horas en condiciones normales, sufriendo un notable incremento en pacientes con insuficiencia hepática funcional (neonatos) y orgánica (cirrosis) (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

La insuficiencia renal no modifica sustancialmente la semivida del cloranfenicol, aunque ocasiona la acumulación de sus metabolitos, que pueden resultar tóxicos (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

INDICACIONES TERAPÉUTICAS

Actualmente, el cloranfenicol no constituye un tratamiento de elección para ninguna infección específica por sus problemas de toxicidad; sin embargo, su actividad antimicrobiana y su excelente penetración tisular lo mantienen aún como agente de utilidad en terapéutica, aunque de segunda elección. Constituye una *alternativa* valiosa en las siguientes indicaciones:(GOMEZ-LUS M. L., CALVO A. y PRIETO J.; 2008).

1. *Meningitis bacteriana*. Es útil para el tratamiento de la meningitis en los pacientes alérgicos a la penicilina cuando el cuadro está producido por neumococos resistentes a la penicilina y como alternativa oral cuando el tratamiento parenteral es imposible.
2. *Infecciones por anaerobios*. Se utiliza como alternativa al metronidazol y a la clindamicina en pacientes graves con focos abdominales de infección (junto con un β -lactámico y un aminoglucósido).
3. *Salmonelosis*. Durante mucho tiempo ha sido el tratamiento de elección de la fiebre tifoidea y en otros tipos de salmonelosis sistémicas. Actualmente se prefieren otros agentes más inocuos, como la ampicilina, la amoxicilina y el cotrimoxazol. El cloranfenicol no debe utilizarse en las gastroenteritis agudas por *Salmonella* (son infecciones autolimitadas) ni en el estado de portador (se prefiere ampicilina o cotrimoxazol).
4. *Tratamiento alternativo a las tetraciclinas*. En infecciones por rickettsias, clamidias, en la fiebre recurrente y en la angiomasitosis bacilar. En el tratamiento de la tularemia puede asociarse al tratamiento de elección (estreptomina) cuando la enfermedad se expresa clínicamente con meningitis.

REACCIONES ADVERSAS

Tras un elevado entusiasmo surgido con el descubrimiento y desarrollo de este agente antimicrobiano y los resultados clínicos obtenidos, en 1950 se comenzaron a conocer diversos informes sobre su hematotoxicidad, detectándose importantes discrasias sanguíneas en la especie humana fueron dos los efectos secundarios observados sobre las células de la médula ósea (RÍOS, 2004).

- a) **Depresión de la médula ósea dosis-dependiente**. Esta reacción está relacionada con el efecto inhibitorio directo del antibiótico sobre la síntesis mitocondrial de proteínas. Se manifiesta por reticulocitopenia, anemia, leucopenia o trombopenia, produciéndose un aumento en la concentración sérica de hierro y una disminución de la incorporación de hierro radiactivo a los hematíes, lo que indica una reducción en la síntesis de hemoglobina.

Este tipo de toxicidad es extraordinariamente frecuente, aparece durante el tratamiento, es dosis-dependiente y reversible al suspender la administración del antibiótico. Se produce con mayor probabilidad con dosis de cloranfenicol superiores a 4 g/día o en pacientes en que se alcanza concentraciones plasmáticas mayores de 25 µg/mL (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

- b) El segundo tipo de toxicidad medular es una **respuesta idiosincrásica que con frecuencia se manifiesta en forma de aplasia medular** que puede ser mortal. Estudios epidemiológicos realizados en Estados Unidos reflejan un caso de anemia aplásica por cada 25.000-40.000 pacientes tratados. La depresión de la médula ósea puede ocurrir semanas o meses después de haber finalizado el tratamiento o durante la administración del antibiótico, sin que exista relación con la dosis administrada. Aunque el mecanismo responsable de la anemia aplásica no se conoce con exactitud, parece que es distinto del que produce el cuadro de depresión medular dosis-dependiente. Se han descrito casos de leucemia en pacientes que habían presentado anemia aplásica tras la administración de cloranfenicol (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

Puesto que la patogénesis de la toxicidad hematológica del cloranfenicol no se conoce perfectamente todavía, se recomienda realizar hemogramas semanalmente (2/semana) y suspender el tratamiento si el recuento de leucocitos disminuye por debajo de $2.500/\text{mm}^3$ (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

La afectación neurológica puede producirse tras la administración tópica o sistémica. En el primer caso se han descrito alteraciones del VIII par craneal, con pérdida de audición tras la instilación de gotas óticas. En el segundo es típica la neuropatía óptica y periférica, que suele relacionarse directamente con la dosis administrada (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

El *síndrome gris* del recién nacido supuso una auténtica epidemia en los años sesenta al estar muy extendido el uso de este antibiótico en prematuros. El cuadro clínico se caracteriza por cianosis, hipotensión, vómitos, distensión abdominal y shock con coloración gris azulada de la piel; cursa con una elevadísima tasa de fallecimiento (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

Este proceso se produce como consecuencia de que, en el hígado del recién nacido, no tiene lugar la conjugación del fármaco con glucurónidos encontrándose altos niveles de cloranfenicol sin conjugar (RÍOS, 2004).

Esta toxicidad, junto con la disponibilidad de otros antibióticos, obliga a contraindicar el uso de este fármaco durante el último trimestre de embarazo, el parto y el primer mes de vida. Si existiese indicación exclusiva, no debería superar la dosis diaria de 25 mg/kg (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

Al igual que otros antibióticos, el cloranfenicol puede causar alteraciones digestivas: anorexia, náuseas, vómitos, diarreas y dolor abdominal, siendo posible también las sobreinfecciones micóticas y bacterianas. Los fenómenos alérgicos son infrecuentes. El cloranfenicol produce efectos inmunodepresores, celulares y humorales, cuya trascendencia práctica no se ha evaluado (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

Las reacciones de hipersensibilidad son raras. También se han descrito sangrados provocados por alteración de la síntesis de vitamina K tras la administración prolongada (GOMEZ-LUS M. L., CALVO A. y PRIETO J.; 2008).

INTERACCIONES

Encontramos una primera forma de interacción medicamentosa, que es la derivada de la interacción por el lugar de unión donde ejerce la inhibición, es decir, en las subunidades ribosómicas 30S y 50S, donde provoca la inhibición de la síntesis proteica. Sucede entre el cloranfenicol y otros antibióticos bacteriostáticos como los macrólidos (eritromicina, espiramicina y tilosina), las tetraciclinas o las lincosamidas (lincomicina y clindamicina). Este fenómeno aparece con mayor gravedad en enfermos con defensas disminuidas (RÍOS, 2004).

Puede reducir el aclaramiento con riesgo de intoxicación si no se produce la consiguiente reducción posológica de tolbutamida, fenitoína, ciclofosfamida, anticoagulantes orales y ciclosporina A. El paracetamol puede reducir el metabolismo del cloranfenicol, mientras que los barbitúricos, la rifampicina y la fenitoína pueden incrementarlo (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

Debido a su efecto bacteriostático, el cloranfenicol antagoniza *in vitro* la actividad de los β -lactámicos y de los aminoglucósidos. La significación clínica de este hallazgo es dudosa, pero conviene tener en cuenta esta interacción cuando hay que tratar a pacientes granulocitopénicos o con infecciones como la endocarditis bacteriana, que requieren concentraciones bactericidas de fármacos (GOMEZ-LUS M. L., CALVO A. y PRIETO J.; 2008).

Finalmente, al administrar de forma combinada cloranfenicol y rifampicina (antibiótico tuberculostático), se prolonga la semivida de la rifampicina lo que requiere un reajuste de la dosificación (RÍOS, 2004).

DOSIFICACIÓN

Debe estar dirigida a conseguir unos niveles séricos estables, con máximos entre 10 y 20 $\mu\text{g/mL}$ y mínimos entre 5 y 10 $\mu\text{g/mL}$; máximos superiores a 25 y mínimos superiores a 10 $\mu\text{g/mL}$ pueden ocasionar toxicidad hematológica. Como ya se ha indicado, la variabilidad para una misma dosis puede ser muy grande en recién nacidos, niños pequeños, enfermos hepáticos, enfermos renales que reciban succinato y pacientes que tomen otros fármacos que pueden originar interacciones; en estos grupos se deben monitorizar los niveles plasmáticos (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

La dosis habitual de cloranfenicol en el adulto, oral e IV, es de 50 mg/kg/día, repartida en 4 dosis; en las meningitis, 100 mg/kg/día en 4 dosis. En recién nacidos menores de 2 semanas o de peso inferior a 2 kg se utiliza una dosis de 25 mg/kg/día cada 12 horas; en niños de más de 4 semanas, 50-75 mg/kg/día repartidos en 4 dosis por vía oral o IV (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

2.3 MARCO CONCEPTUAL

2.3.1 ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE

Es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones

electromagnéticas y a su vez que la cantidad de la luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma (DIAZ, 2012).

2.3.2 POTENCIA VERDADERA

La real potencia del material y/o preparación durante el tiempo del ensayo. En la práctica este valor puede ser nunca exactamente evaluado (CÁRDENAS, 2008).

2.3.3 POTENCIA ESTABLECIDA O POTENCIA DECLARADA

Ésta es frecuentemente un valor nominal asignado a una preparación de formulación conocida de la potencia de la materia prima o a granel. En caso de material a granel o materia prima, este podría ser calculado de la data de ensayo (CÁRDENAS, 2008).

2.3.4 POTENCIA ESTIMADA

La potencia declarada de la data de ensayo. Es un error referir como una “mejor estimación” (CÁRDENAS, 2008).

2.3.5 INTERVALO DE CONFIANZA

Hay límites para la potencia verdadera de las materias/preparaciones y son calculadas en suposición que no hay tendencia o parcialidad en el sistema de ensayo. Ellos pueden ser calculados en algún nivel deseado de probabilidad. Un nivel de 0.95 es aplicado. El concepto es que, si el ensayo puede ser repetido varias veces, la verdadera potencia estaría dentro de los límites fiduciales en 95% de valoración. En algunas pruebas particulares, la verdadera potencia puede ser en

cualquier lugar dentro de los límites fiduciales (y ocasionalmente fuera de éste). Y la potencia estimada no es mejor medida que la potencia verdadera (CÁRDENAS, 2008).

2.3.6 USP

La Farmacopea de los Estados Unidos (The United States Pharmacopeia, USP) es una autoridad no gubernamental que establece estándares públicos oficiales para los medicamentos recetados y de venta libre, y otros productos para la salud fabricados o vendidos en los Estados Unidos. USP también establece estándares ampliamente reconocidos para ingredientes alimenticios y suplementos dietéticos. USP fija estándares para la calidad, pureza, concentración y consistencia de esos productos esenciales para la salud pública. Los estándares de USP son reconocidos y utilizados en más de 130 países en todo el mundo. Esos estándares han ayudado a asegurar la salud pública en todo el mundo durante casi 200 años (LABOMERSA S.A., 2012).

2.3.7 ESTÁNDARES DE REFERENCIA

Los estándares de referencia USP oficiales son muestras con un gran nivel de caracterización de medicamentos, excipientes, impurezas, productos de degradación, suplementos dietéticos, reactivos farmacopeicos y calibradores de desempeño. Su uso es obligatorio en la realización de pruebas y valoraciones USP (LABOMERSA S.A., 2012).

2.3.8 PATRÓN PRIMARIO

Un patrón primario también llamado estándar primario es una sustancia utilizada en química como referencia al momento de hacer una valoración o estandarización (GALANO y ROJAS, 2012).

2.3.9 PATRÓN SECUNDARIO

El patrón secundario también es llamado estándar secundario y en el caso de una titulación suele ser titulante o valorante. Su nombre se debe a que en la mayoría de los casos se necesita del patrón primario para conocer su concentración exacta (GALANO y ROJAS, 2012).

2.3.10 MEDICAMENTO GENÉRICO

Es un producto farmacéutico que tiene el mismo principio activo, la misma dosis, la misma forma farmacéutica y las mismas características farmacocinéticas, farmacodinámicas y farmacotécnicas que un medicamento que es utilizado como referencia legal (UEMA, CORREA SALDE, y FONTANA, 2003).

2.3.10 MEDICAMENTO INNOVADOR (ORIGINAL)

Producto medicinal que contiene una nueva molécula, no comercializada hasta ese momento y que ha pasado por todas las fases del desarrollo de un nuevo producto y/o un nuevo principio activo (fases preclínicas y fases clínicas I, II y III). El fármaco innovador, en ocasiones también denominado original, obtiene la patente de producto mediante un proceso de investigación que incluye síntesis química, desarrollo preclínico, galénico y clínico. La patente de un fármaco se solicita tempranamente durante su desarrollo. Ésta facilita la exclusividad de fabricación y comercialización de la sustancia durante al menos 20 años. Dentro de la etapa de desarrollo clínico, se procede al estudio de sus características farmacocinéticas, su biodisponibilidad y la bioequivalencia entre distintas formulaciones, sus propiedades farmacodinámicas, su eficacia terapéutica y su seguridad. Tras su comercialización se sumarán nuevos datos sobre su efectividad y efectos indeseables (UEMA, CORREA SALDE, y FONTANA, 2003).

2.3.11 MEDICAMENTO DE MARCA

Un medicamento de Marca es trabajado bajo un nombre comercial específico registrado por un laboratorio. En la mayor parte de los casos, los medicamentos de Marca todavía están con sus patentes registradas, significando esto que el laboratorio es la fuente exclusiva del producto, pero en muchos países estas patentes no tienen efecto y crean alternativas Genéricas para estos productos (BLAZQUEZ, 2010).

2.3.12 CEPA

En microbiología, conjunto de virus, bacterias u hongos que tienen el mismo patrimonio genético (MICROBIOLOGÍA: GLOSARIO, 2012).

2.3.13 MICROORGANISMO

Organismos microscópicos pertenecientes por regla general a virus, bacterias, algas, hongos o protozoos (MICROBIOLOGÍA: GLOSARIO, 2012).

2.3.14 CEPAS CERTIFICADAS (ATCC)

Es un material biológico de referencia certificado. La colección certifica que se suministra una determinada cepa, que es un cultivo puro, y que se han observado las convenientes pruebas morfológicas, bioquímicas y moleculares correspondientes (MONTROYA, 2012)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

MATERIAL DE BIOSEGURIDAD:

- Lentes.
- Guantes.
- Barbijos (mascarillas).
- Gorros.
- Protectores de calzado.
- Batas estériles.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- CEPA *Escherichia coli* ATCC 10536, material biológico de referencia certificado.

MATERIAL EN ESTUDIO:

- Muestras de cloranfenicol cápsulas de 500 mg (3 genéricas y 2 comerciales) y
- Muestras de cloranfenicol suspensión oral 250 mg/5mL (1 genérica y 1 comercial)

MATERIAL DE VIDRIO:

- Frasco de Cultivo Roux 1000 mL.
- Perlas de 4 – 6mm
- Placas Petri 90x60mm.
- Fiola de 25 mL.

- Fiola de 50 mL.
- Fiola de 100 mL.
- Tubos de ensayo 16 x 150 mm.
- Tubos de ensayo 13 x 100 mm.
- Probeta de 500 mL.
- Probeta de 250 mL.
- Pipetas Volumétricas.
- Pipetas de 1mL
- Pipetas de 5mL
- Pipetas de 10mL
- Pipetas de 20 mL.
- Pipetas de 25 mL.
- Frascos con tapa rosca de 30 mL.
- Frascos con tapa rosca de 500 mL.
- Frascos con tapa rosca de 250 mL.

MATERIAL DE PLÁSTICO

- Puntas plásticas calidad low retention y de preferencia con filtro (tips para pipeta automática).
- Propipeta (bomba de succión).
- Pizetas.

MATERIAL DE CULTIVO

- **MEDIO DE CULTIVO SÓLIDO:** medio antibiótico N° 1
- **MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO:** medio antibiótico N° 3.

REACTIVOS:

- Etanol Absoluto.
- Agua Purificada.

- Alcohol 70%.
- Hipoclorito de Sodio al 0.1%
- Formaldehído diluido (1:3)
- Solución Salina Fisiológica.

INSTRUMENTOS:

- Micropipeta
 - o Alcance (capacidad): 100-1000 μ L
 - o Error: \pm 0.25%
- Asa de siembra (asa bacteriológica).
- Aguja de siembra.
- Mechero Bunsen.

EQUIPOS:

- Balanza Analítica
 - o Capacidad Máxima 310 g
 - o Legibilidad 0,001 g
- Potenciómetro.
 - o Alcance de indicación: -2 a 16 pH
 - o División de escala: 0.01
 - o Presión de indicación: \pm 0.01
- Incubadora
 - o Rango de trabajo: 10-100 °C
 - o División de escala: 0.1 °C
 - o Selector: análogo/digital
 - o Temperatura de trabajo: 33 °C \pm 2 °C
- Estufa de esterilización.
 - o Rango de trabajo de ambiente hasta 220 °C y a 300 °C
 - o Sensibilidad de trabajo con controlador estándar +/- 5 °C
 - o Consumo: desde 0.8 kw/ h
 - o Potencia: 800 watt

- Alimentación 220 V / 50 Hz.
- Sonicador ultrasónico.
 - Capacidad: 1.9 L.
 - Tanque: 15.2 x 14.0 x 10.1 cm
 - Frecuencia: 47 kHz
- Autoclave.
 - Volumen de cámara: 19 litros.
 - Tensión: 120/230 V
 - Frecuencia: 50/60 Hz
 - Potencia: 1400 W
 - Corriente: 10.7/6 A
 - Dimensiones generales: 508x362x550 mm
- Baño María.
 - Rango de trabajo: 20 – 90 °C
 - División de escala: 0.1 °C
 - Selector: análogo/digital
 - Temperatura de trabajo: 33 °C ± 1 °C
- Espectrofotómetro UV-visible.
 - Longitud de onda:
 - Rango: 320 – 1000 nm
 - Resolución: 1 nm
 - Precisión: ± 2 nm
 - Anchura de banda: 8 nm
 - Absorbancia:
 - Rango: -0.300 a 1.999 A
 - Resolución: 0.001 A
- Cronometro digital.
 - Alcance. 19 h, 59 min, 59 seg.
 - División de escala: 1 seg
 - Exactitud: ± 0.01 seg.

OTROS:

- Marcador indeleble.
- Gradillas de metal.

- Parafilm.
- Cabina de Seguridad Biológica Clase II.

3.2 METODOLOGÍA

Debido a la variabilidad entre valoraciones se realizaron tres determinaciones independientes (en días diferentes) tanto para las muestras de cápsulas como para las de suspensión oral. Con esto se buscó obtener una estimación confiable de la potencia. Para cada determinación independiente se prepararon inóculos, soluciones madre y diluciones de prueba tanto del estándar como de las muestras.

Durante el análisis se emplearon instrumentos calibrados y materiales certificados. Se tomaron las precauciones de bioseguridad adecuadas debido a que en los procedimientos se utilizan cultivos vivos del microorganismo de prueba. De igual modo, el material utilizado para almacenar y transferir microorganismos y diluciones de prueba fue debidamente esterilizado y estuvo exento de residuos que pudieran interferir en la valoración. Es preciso indicar que el análisis se desarrolló en un ambiente adecuado y seguro.

Realizando una regresión lineal no ponderada se pudo generar la línea de la curva estándar. Se graficaron los valores de absorbancia obtenidos del análisis en función del logaritmo decimal de los valores de concentración de los estándares.

El porcentaje de potencia antibiótica de las muestras problema se calculó primero reemplazando sus valores de absorbancia en la ecuación de la recta y luego comparando las concentraciones obtenidas con el estándar 3.

3.2.1 NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

El estudio es de tipo descriptivo, transversal, correlacional y prospectivo.

DESCRIPTIVO, se realizó un estudio observacional, en el cual no se manipularon las variables.

TRANSVERSAL, las muestras se analizaron en un periodo de tiempo corto.

CORRELACIONAL, se midió la relación que existe entre la concentración de las muestras y la inhibición del crecimiento bacteriano.

PROSPECTIVO, por el tiempo de ocurrencia de los hechos.

3.2.3 VARIABLES: DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL

VARIABLES INTERVINIENTES

Concentración de las muestras

Definición Conceptual.- Cantidad de principio activo contenido en un determinado peso o volumen. La concentración de la sustancia medicamentosa o principio activo se expresó generalmente de las siguientes formas: peso/peso, peso/volumen, dosis unitaria/volumen (AZANZA, HONORATO, y MEDIAVILLA; 2008).

Definición Operacional.-

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de Medición:** Directa.
- **Escala de Medición:** De razón o proporción.
- **Instrumentos de Medición:** Balanza Analítica, Fiolas Volumétricas y micropipetas.
- **Procedimiento de Medición:** Para cada muestra se pesó la cantidad equivalente a 50mg de principio activo y se hicieron las diluciones respectivas hasta llegar a una concentración equivalente al estándar $S_3=2,5 \mu\text{g/mL}$.
- **Indicadores:** Cantidad de muestra equivalente a la mediana de la concentración (S_3)/diluyente inicial y diluyente adicional.
- **Expresión Final de la Variable:** $\mu\text{g/mL}$.

Porcentaje de potencia antibiótica

Definición Conceptual.- En la evaluación de potencia y pureza para las sustancias antibióticas el efecto medido fue la inhibición del crecimiento de una cepa apropiada de microorganismos, o sea, la prevención de la multiplicación de los microorganismos de prueba la cual se expresó en porcentaje (SNITKOFF, 2012).

Definición Operacional.-

- **Naturaleza:** Cuantitativa.
- **Forma de Medición:** Indirecta
- **Escala de Medición:** De razón o proporción.
- **Instrumento de Medición:** Espectrofotómetro UV-Visible con filtro de 530 nm.
- **Procedimiento de Medición:** Para cada muestra se realizaron las lecturas de unidades de absorbancia a 530nm, se obtuvieron los porcentajes de potencia empleando Regresiones Lineales.
- **Indicadores:** Grado de turbidez (crecimiento bacteriano) de las muestras después del tratamiento.
- **Expresión Final de la Variable:** porcentaje de potencia antibiótica.

Procedencia de las muestras

Laboratorios Farmacéuticos de los cuales proceden las diferentes muestras.

Forma farmacéutica de las muestras

- Cloranfenicol (cápsulas 500 mg).
- Cloranfenicol (suspensión oral 250 mg/5mL).

TABLA N° 1: Resumen de operacionalización de variables

VARIABLES INTERVINIENTES	Concentración de las muestras	Definición Conceptual	Cantidad de principio activo contenido en un determinado peso o volumen. La concentración de la sustancia medicamentosa o principio activo se expresó generalmente de las siguientes formas: peso/peso, peso/volumen, dosis unitaria/volumen.	
		Definición Operacional	Naturaleza	Cuantitativa.
			Forma de Medición	Directa.
			Escala de Medición	De razón o proporción.
			Instrumentos de Medición	Balanza Analítica, Fiolas Volumétricas y micropipetas.
			Procedimiento de Medición	Para cada muestra se pesó la cantidad equivalente a 50mg de principio activo y se hicieron las diluciones respectivas hasta llegar a una concentración equivalente al estándar S3=2,5 µg/mL.
			Indicadores	Cantidad de muestra equivalente a la mediana de la concentración (S3)/diluyente inicial y diluyente adicional.
	Expresión Final de la Variable	µg/mL		
	Porcentaje de potencia antibiótica	Definición Conceptual	En la evaluación de potencia y pureza para las sustancias antibióticas el efecto medido fue la inhibición del crecimiento de una cepa apropiada de microorganismos, o sea, la prevención de la multiplicación de los microorganismos de prueba.	
		Definición Operacional	Naturaleza	Cuantitativa.
Forma de Medición			Directa.	
Escala de Medición			De razón o proporción.	
Instrumento de Medición			Espectrofotómetro UV-Visible con filtro de 530 nm.	
Procedimiento de Medición			Para cada muestra se realizaron las lecturas de unidades de absorbancia a 530 nm, se obtuvieron los porcentajes de potencia empleando Regresiones Lineales.	
Indicadores			Grado de turbidez (crecimiento bacteriano) de las muestras después del tratamiento.	
Expresión Final de la Variable	Porcentaje de potencia antibiótica.			
PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS		Laboratorios Farmacéuticos de los cuales proceden las diferentes muestras.		
FORMA FARMACÉUTICA DE LAS MUESTRAS		•Cloranfenicol (cápsulas 500 mg). •Cloranfenicol (suspensión oral 250 mg/5mL).		

FUENTE: Elaboración propia.

3.2.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACIÓN

Se tomó como población cloranfenicol cápsulas de 500 mg cloranfenicol y suspensión oral 250 mg/5mL elaborados por los 9 Laboratorios Farmacéuticos que se encuentran registrados en el OBSERVATORIO DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS de la DIGEMID y se expenden en el mercado farmacéutico nacional (**VER ANEXO N° 2**).

MUESTRA

Se tomó cloranfenicol cápsulas y suspensión oral elaborados por los 5 Laboratorios Farmacéuticos que se encuentran registrados en el OBSERVATORIO DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS de la DIGEMID y se expenden en el mercado farmacéutico local (**VER ANEXO N° 3**).

Éstos corresponden a 5 muestras de cápsulas de 500 mg (3 genéricas y 2 comerciales) y 2 de suspensión oral de 250 mg/5mL (1 genérica y 1 comerciales).

3.2.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Se incluyó una muestra de cada laboratorio registrado en el OBSERVATORIO DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS de la DIGEMID comercializada en la ciudad de Cusco.

Durante el análisis se emplearon muestras de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL) con fecha de vencimiento correspondiente a mayo y septiembre del 2014.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluyeron todas las muestras de cloranfenicol de forma farmacéutica distinta a la especificada anteriormente.

Se excluyeron muestras de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL) con fechas de vencimiento posteriores a septiembre del 2014.

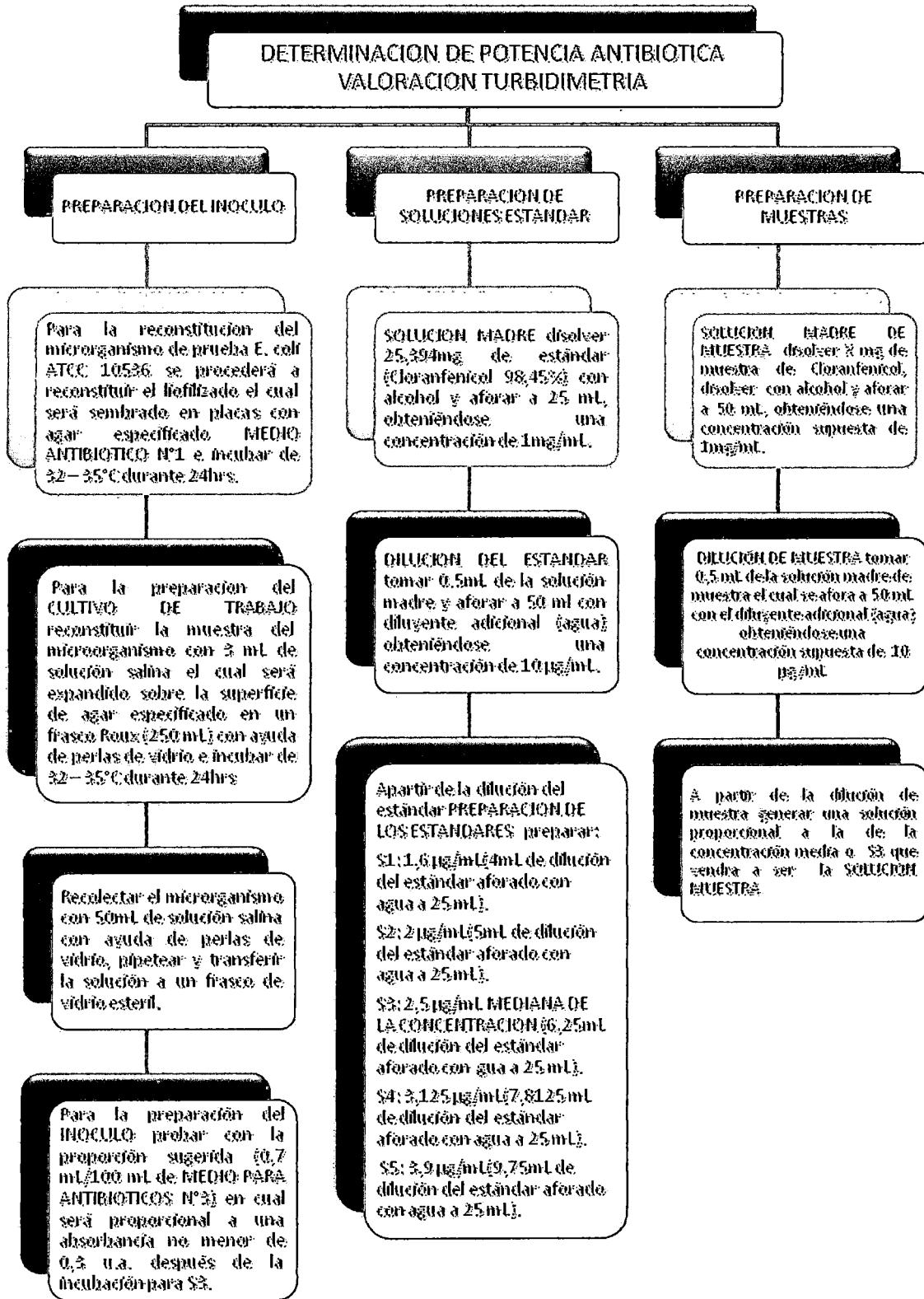
Se excluyeron muestras de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL) de laboratorios que no están contemplados en el OBSERVATORIO DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS de la DIGEMID comercializados en la ciudad de Cusco.

3.2.6 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

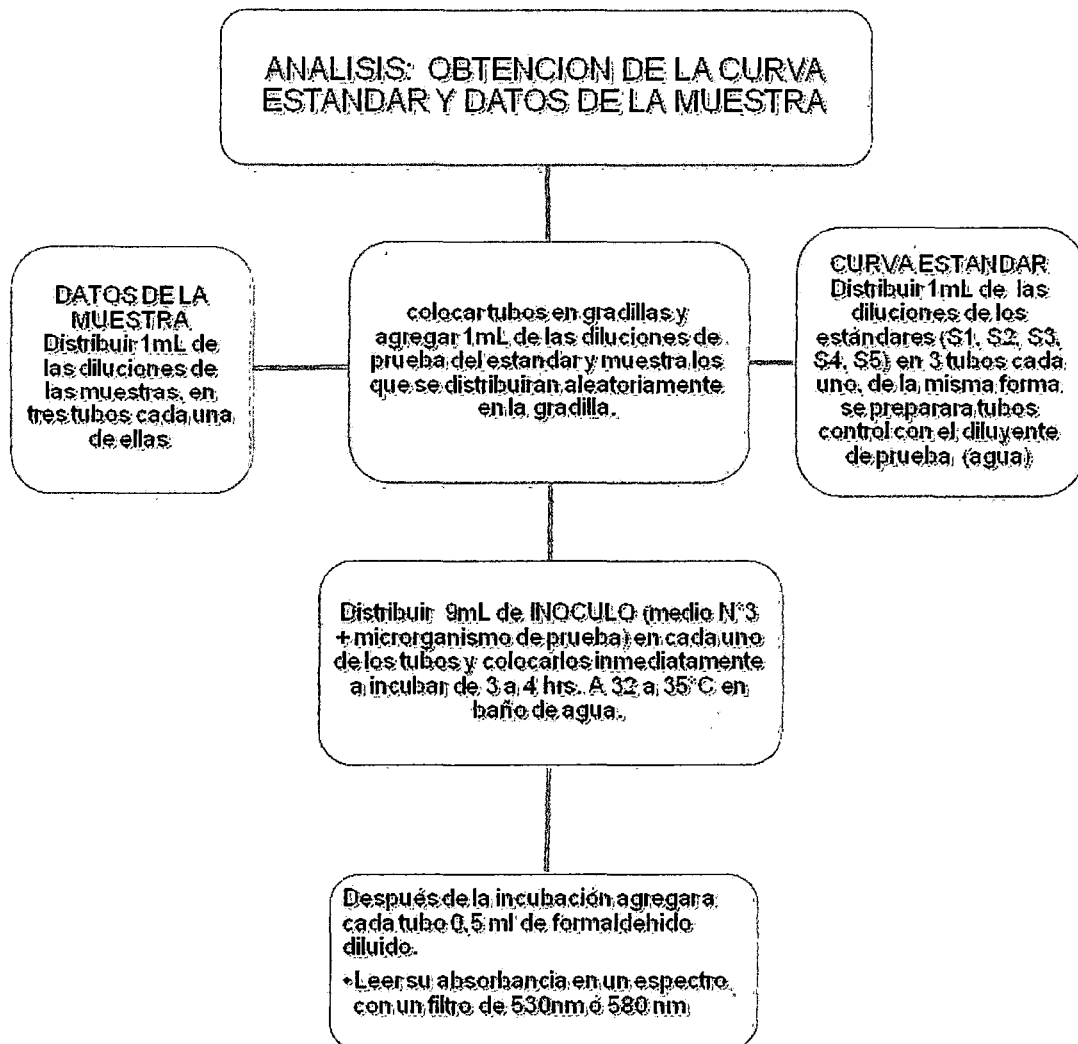
PRIMERA FASE

- Recopilación de datos bibliográficos.
- Desarrollo del método analítico para la determinación de la potencia antibiótica de las muestras de cloranfenicol.

3.2.7 PROCEDIMIENTO



FUENTE: Adaptado de USP-35 NF-30 (2012).



FUENTE: Adaptado de USP-35 NF-30 (2012).

DONDE: AGUA: agua purificada. ALCOHOL: etanol absoluto USP. FORMALDEHIDO DILUIDO: solución de formaldehído y agua (1:3).

3.2.8 TÉCNICAS PARA ANÁLISIS Y PROCESAMIENTO DE DATOS

Los datos se procesaron utilizando el Software Microsoft Office 2010 (Microsoft Word, Microsoft Excel y Microsoft PowerPoint). Posteriormente se analizaron estadísticamente con el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV) en español.

IV. RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se detalla el análisis de los datos obtenidos durante la determinación microbiológica de potencia antibiótica de muestras de cloranfenicol (cápsulas y suspensión oral) por el método turbidimétrico. Asimismo se presentan los resultados y la interpretación de estos.

4.1 PARA CLORANFENICOL 500 mg (CÁPSULAS)

4.1.1 DÍA 1

4.1.1.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS

TABLA N° 2: Lecturas de absorbancia de los estándares correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de cápsulas.

Estándar	Concentración (µg/mL)	Repetición	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
S ₁	1.600	1	0.6704	0.67080	0.00052915
		2	0.6706		
		3	0.6714		
S ₂	2.000	1	0.6519	0.65317	0.00170098
		2	0.6525		
		3	0.6551		
S ₃	2.500	1	0.6358	0.63643	0.00056862
		2	0.6366		
		3	0.6369		
S ₄	3.125	1	0.6022	0.60063	0.00155027
		2	0.6006		
		3	0.5991		
S ₅	3.900	1	0.5643	0.56527	0.00105987
		2	0.5664		
		3	0.5651		

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 1 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 1 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de los estándares (de concentración conocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evaluó por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada uno de los estándares y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

Los valores de absorbancia de los estándares disminuyen a medida que la concentración de los mismos aumenta lo cual indica que existe una relación inversa entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se puede explicar porque a mayor concentración del antibiótico la concentración del microorganismo de prueba disminuyó notablemente, lo cual se evidencia con la cantidad de luz absorbida luego del tratamiento (Absorbancia).

TABLA N° 3: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de cápsulas.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
C ₁	1	---	0.6218	0.62113	0.00142244
	2	---	0.6221		
	3	---	0.6195		
C ₂	1	---	0.6069	0.60917	0.00302379
	2	---	0.6080		
	3	---	0.6126		
C ₃	1	---	0.6309	0.63120	0.0003000
	2	---	0.6315		
	3	---	0.6312		
C ₄	1	---	0.6060	0.60630	0.00127671
	2	---	0.6077		
	3	---	0.6052		
C ₅	1	---	0.6178	0.61576	0.00255969
	2	---	0.6129		
	3	---	0.6166		

Donde: C₁, C₂, C₃, C₄ y C₅: Muestras problema empleadas el Día 1 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 1 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de las muestras problema (de concentración desconocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la

posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evaluó por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada una de las muestras y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

Las lecturas de absorbancia obtenidos para cada muestra son distintos y dentro de estas se observó una relación inversa entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se puede explicar porque cada muestra tiene una procedencia distinta y cada una de las muestras paso por distintos procesos de producción como también distintos controles de calidad.

4.1.1.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR

TABLA N° 4: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 1 de análisis de las muestras de cápsulas.

Estándar	Repetición	Concentración (µg/mL)	Log10_Conc	Absorbancia
S ₁	1	1.600	0.204119983	0.6704
	2	1.600	0.204119983	0.6706
	3	1.600	0.204119983	0.6714
S ₂	1	2.000	0.301029996	0.6519
	2	2.000	0.301029996	0.6525
	3	2.000	0.301029996	0.6551
S ₃	1	2.500	0.397940009	0.6358
	2	2.500	0.397940009	0.6366
	3	2.500	0.397940009	0.6369
S ₄	1	3.125	0.494850022	0.6022
	2	3.125	0.494850022	0.6006
	3	3.125	0.494850022	0.5991
S ₅	1	3.900	0.591064607	0.5643
	2	3.900	0.591064607	0.5664
	3	3.900	0.591064607	0.5651

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 1 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra los datos empleados el Día 1 de análisis para la generación de la curva estándar. Ésta se obtuvo graficando los valores de absorbancia obtenidos de los estándares en función del logaritmo decimal de sus concentraciones.

Determinación de la Curva Estándar por regresión simple: ABSORBANCIA vs. LOG10 CONC

Variable dependiente: ABSORBANCIA

Variable independiente: LOG10_CONC

$$\text{Lineal: } Y = a + b \cdot X$$

Coeficientes

Parámetro	Mínimos Cuadrados Estimado	Estándar Error	Estadístico T	Valor-P
Intercepto	0.733598	0.00593304	123.646	0.0000
Pendiente	-0.272341	0.0141033	-19.3104	0.0000

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 1 de análisis.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	0.0208372	1	0.0208372	372.89	0.0000
Residuo	0.000726437	13	0.0000558798		
Total (Corr.)	0.0215636	14			

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 1 de análisis.

Coefficiente de Correlación = -0.983012

R-cuadrada = 96.6312 por ciento

INTERPRETACIÓN

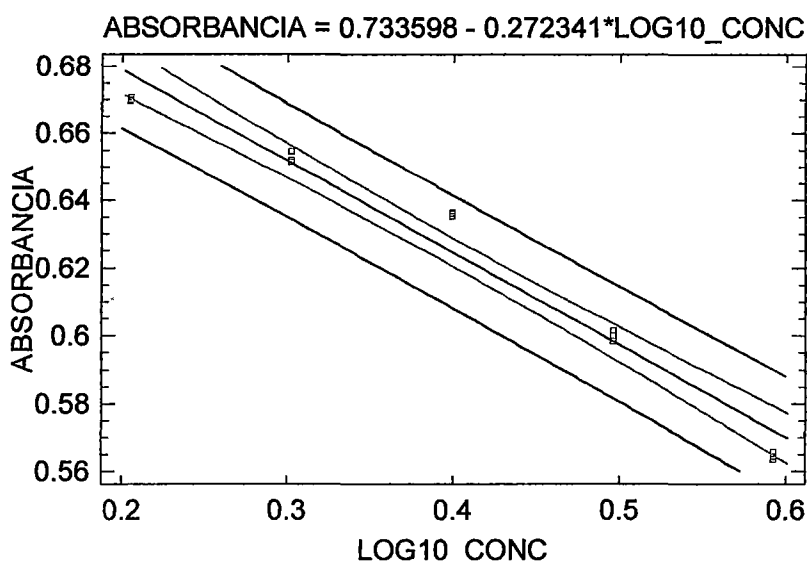
Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0.05, **existe una relación estadísticamente significativa entre ABSORBANCIA y LOG10_CONC** con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que **el modelo ajustado explica 96.6312% de la variabilidad en ABSORBANCIA**. El coeficiente de correlación es igual a -0.983012, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables ABSORBANCIA y LOG10_CONC. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 0.00747528.

DISCUSIÓN:

La absorbancia dependió del logaritmo decimal de la concentración en un 98.30%. Existe una relación inversa entre las variables. A mayor concentración del antibiótico, la absorbancia leída será menor.

GRÁFICO N° 1: Del modelo ajustado correspondiente al Día 1 de análisis de las muestras de cápsulas.



FUENTE: Obtenido a partir de los datos mostrados en la TABLA N° 4 utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN

El gráfico anterior corresponde a la curva estándar generada a partir de la regresión simple de la absorbancia en función del logaritmo decimal de cada uno de los estándares. Se puede observar que la relación entre la ABSORBANCIA y el LOG10_CONC, es inversa. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

DISCUSIÓN:

La absorbancia dependió del logaritmo decimal de la concentración en un 98.30%. Existió una relación inversa entre las variables. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

4.1.1.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA

TABLA N° 5: Resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de cápsulas.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	% de potencia antibiótica
C ₁	1	2.574	102.95
	2	2.567	102.69
	3	2.624	104.97
C ₂	1	2.919	116.78
	2	2.892	115.70
	3	2.782	111.28
C ₃	1	2.383	95.33
	2	2.371	94.84
	3	2.377	95.09
C ₄	1	2.942	117.67
	2	2.900	115.99
	3	2.962	118.47
C ₅	1	2.662	106.49
	2	2.775	111.01
	3	2.690	107.58

Donde: C₁, C₂, C₃, C₄ y C₅: Muestras problema empleadas el Día 1 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN:

La tabla anterior expone los resultados de concentración de las muestras de cápsulas correspondientes al Día 1 de análisis, los mismos que fueron calculados a partir de la ecuación de la línea de la curva estándar obtenida por regresión lineal.

El % de potencia antibiótica de las muestras problema se determinó en función a la mediana de la concentración (estándar 3: S₃), cuya concentración es conocida (2.500µg/mL) y corresponde a un 100% de potencia.

DISCUSIÓN:

Los porcentajes de potencia antibiótica de las muestras se encontraron dentro del rango que especifica la USP-35/NF-30, la misma que indica que para el antibiótico cloranfenicol no debe ser menor que 90% ni mayor que 120%. Los valores obtenidos no varían significativamente por día debido a que la determinación se llevó a cabo a las mismas condiciones.

4.1.2 DÍA 2

4.1.2.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS

TABLA N° 6: Lecturas de absorbancia obtenidas de los estándares correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de cápsulas.

Estándar	Concentración (µg/mL)	Repetición	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
S ₁	1.600	1	0.7000	0.70017	0.00020817
		2	0.7001		
		3	0.7004		
S ₂	2.000	1	0.6677	0.66977	0.0020502
		2	0.6698		
		3	0.6718		
S ₃	2.500	1	0.6481	0.65053	0.0022053
		2	0.6511		
		3	0.6524		
S ₄	3.125	1	0.6065	0.60697	0.00056862
		2	0.6068		
		3	0.6076		
S ₅	3.900	1	0.5895	0.58960	0.00045826
		2	0.5901		
		3	0.5892		

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 2 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 2 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de los estándares (de concentración conocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evaluó por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada uno de los estándares y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

Los valores de absorbancia de los estándares disminuyen a medida que la concentración de los mismos aumenta lo cual indica que existe una relación inversa entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se pudo explicar porque a mayor

concentración del antibiótico la concentración del microorganismo de prueba disminuirá notablemente, lo cual se evidencia con la cantidad de luz absorbida luego del tratamiento (Absorbancia).

TABLA N° 7: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de cápsulas.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
C ₁	1	---	0.6397	0.63850	0.001513275
	2	---	0.6390		
	3	---	0.6368		
C ₂	1	---	0.6255	0.62517	0.002615977
	2	---	0.6276		
	3	---	0.6224		
C ₃	1	---	0.6476	0.64890	0.001252996
	2	---	0.6490		
	3	---	0.6501		
C ₄	1	---	0.6258	0.62370	0.001873499
	2	---	0.6231		
	3	---	0.6222		
C ₅	1	---	0.6306	0.63153	0.001069268
	2	---	0.6313		
	3	---	0.6327		

Donde: C₁, C₂, C₃, C₄ y C₅: Muestras problema empleadas el Día 2 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 2 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de las muestras problema (de concentración desconocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evalúa por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada una de las muestras y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

A medida que se incrementa la concentración de los estándares, las lecturas de absorbancia de los mismos disminuyen, lo cual indica que existe una relación

inversa entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se pudo explicar porque a mayor concentración del antibiótico la concentración del microorganismo de prueba disminuirá notablemente, lo cual se evidencia con la cantidad de luz absorbida luego del tratamiento (Absorbancia).

4.1.2.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR

TABLA N° 8: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 2 de análisis de las muestras de cápsulas.

Estándar	Repetición	Concentración (µg/mL)	Log10_Conc	Absorbancia
S ₁	1	1.600	0.204119983	0.7000
	2	1.600	0.204119983	0.7001
	3	1.600	0.204119983	0.7004
S ₂	1	2.000	0.301029996	0.6677
	2	2.000	0.301029996	0.6698
	3	2.000	0.301029996	0.6718
S ₃	1	2.500	0.397940009	0.6481
	2	2.500	0.397940009	0.6511
	3	2.500	0.397940009	0.6524
S ₄	1	3.125	0.494850022	0.6065
	2	3.125	0.494850022	0.6068
	3	3.125	0.494850022	0.6076
S ₅	1	3.900	0.591064607	0.5895
	2	3.900	0.591064607	0.5901
	3	3.900	0.591064607	0.5892

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 2 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra los datos empleados el Día 2 de análisis para la generación de la curva estándar. Ésta se obtuvo graficando los valores de absorbancia obtenidos de los estándares en función del logaritmo decimal de sus concentraciones.

Determinación de la Curva Estándar por regresión simple: ABSORBANCIA vs. LOG10 CONC

Variable dependiente: ABSORBANCIA

Variable independiente: LOG10_CONC

$$\text{Lineal: } Y = a + b \cdot X$$

Coeficientes

<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados Estimado</i>	<i>Estándar Error</i>	<i>Estadístico T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	0.760133	0.00441001	172.365	0.0000
Pendiente	-0.293429	0.010483	-27.9911	0.0000

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 2 de análisis.

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0.024189	1	0.024189	783.50	0.0000
Residuo	0.00040135	13	0.000030873		
Total (Corr.)	0.0245904	14			

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 2 de análisis.

Coeficiente de Correlación = -0.991806

R-cuadrada = 98.3679 por ciento

INTERPRETACIÓN

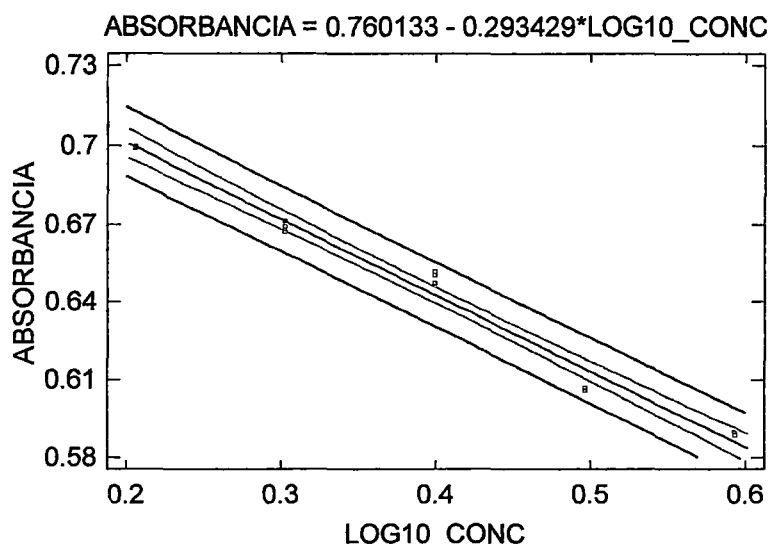
Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0.05, **existe una relación estadísticamente significativa entre ABSORBANCIA y LOG10_CONC** con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el **modelo ajustado explica 98.3679% de la variabilidad en ABSORBANCIA**. El coeficiente de correlación es igual a -0.991806, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables ABSORBANCIA y LOG10_CONC. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 0.00555635.

DISCUSIÓN:

La absorbancia depende del logaritmo decimal de la concentración en un 99.18%. Existe una relación inversa entre las variables. A mayor concentración del antibiótico, la absorbancia leída será menor.

GRÁFICO N° 2: Del modelo ajustado correspondiente al Día 2 de análisis de las muestras de cápsulas.



FUENTE: Obtenido a partir de los datos mostrados en la TABLA N°8 utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN

El gráfico anterior corresponde a la curva estándar generada a partir de la regresión simple de la absorbancia en función del logaritmo decimal de cada uno de los estándares. Se puede observar que la relación entre la ABSORBANCIA y el LOG10_CONC, es inversa. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

DISCUSIÓN:

La absorbancia depende del logaritmo decimal de la concentración en un 99.18%. Existe una relación inversa entre las variables. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

4.1.2.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA

TABLA N° 9: Resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de cápsulas.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	% de potencia antibiótica
C ₁	1	2.573	102.90
	2	2.587	103.47
	3	2.632	105.27
C ₂	1	2.876	115.03
	2	2.829	113.15
	3	2.947	117.87
C ₃	1	2.418	96.72
	2	2.391	95.66
	3	2.371	94.84
C ₄	1	2.869	114.76
	2	2.930	117.22
	3	2.951	118.05
C ₅	1	2.763	110.52
	2	2.748	109.91
	3	2.718	108.71

Donde: C₁, C₂, C₃, C₄ y C₅: Muestras problema empleadas el Día 2 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN:

La tabla anterior expone los resultados de concentración de las muestras de cápsulas correspondientes al Día 2 de análisis, los mismos que fueron calculados a partir de la ecuación de la línea de la curva estándar obtenida por regresión lineal.

El % de potencia antibiótica de las muestras problema se determinó en función a la **mediana de la concentración** (estándar 3: S₃), cuya concentración es conocida (2.500µg/mL) y corresponde a un 100% de potencia.

DISCUSIÓN:

Los porcentajes de potencia antibiótica de las muestras se encuentran dentro del rango que especifica la USP-35/NF-30, la misma que indica que para el antibiótico cloranfenicol no debe ser menor que 90% ni mayor que 120%. Los valores obtenidos no varían significativamente por día debido a que la determinación se llevó a cabo a las mismas condiciones.

4.1.3 DÍA 3

4.1.3.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS

TABLA N° 10: Lecturas de absorbancia obtenidas de los estándares correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de cápsulas.

Estándar	Concentración (µg/mL)	Repetición	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
S ₁	1.600	1	0.7137	0.71427	0.000602771
		2	0.7142		
		3	0.7149		
S ₂	2.000	1	0.6742	0.66823	0.005762233
		2	0.6678		
		3	0.6627		
S ₃	2.500	1	0.6497	0.65113	0.001450287
		2	0.6511		
		3	0.6526		
S ₄	3.125	1	0.6058	0.60717	0.00211266
		2	0.6061		
		3	0.6096		
S ₅	3.900	1	0.5993	0.59973	0.000450925
		2	0.5997		
		3	0.6002		

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 3 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 3 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de los estándares (de concentración conocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evalúa por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada uno de los estándares y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

Los valores de absorbancia de los estándares disminuyen a medida que la concentración de los mismos aumenta lo cual indica que existe una relación inversa entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se puede explicar porque a

mayor concentración del antibiótico la concentración del microorganismo de prueba disminuirá notablemente, lo cual se evidencia con la cantidad de luz absorbida luego del tratamiento (Absorbancia).

TABLA N° 11: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de cápsulas.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
C ₁	1	---	0.6411	0.64400	0.003508561
	2	---	0.6430		
	3	---	0.6479		
C ₂	1	---	0.6303	0.63000	0.001670329
	2	---	0.6315		
	3	---	0.6282		
C ₃	1	---	0.6542	0.65420	0.0031
	2	---	0.6511		
	3	---	0.6573		
C ₄	1	---	0.6310	0.62960	0.002007486
	2	---	0.6305		
	3	---	0.6273		
C ₅	1	---	0.6350	0.63733	0.002173323
	2	---	0.6393		
	3	---	0.6377		

Donde: C₁, C₂, C₃, C₄ y C₅: Muestras problema empleadas el Día 3 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 3 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de las muestras problema (de concentración desconocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evalúa por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada una de las muestras y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

A medida que se incrementa la concentración de los estándares, las lecturas de absorbancia de los mismos disminuyen, lo cual indica que existe una relación

inversa entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se puede explicar porque a mayor concentración del antibiótico la concentración del microorganismo de prueba disminuirá notablemente, lo cual se evidencia con la cantidad de luz absorbida luego del tratamiento (Absorbancia).

4.1.3.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR

TABLA N° 12: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 3 de análisis de las muestras de cápsulas.

Estándar	Repetición	Concentración (µg/mL)	Log10_Conc	Absorbancia
S ₁	1	1.600	0.204119983	0.7137
	2	1.600	0.204119983	0.7142
	3	1.600	0.204119983	0.7149
S ₂	1	2.000	0.301029996	0.6742
	2	2.000	0.301029996	0.6678
	3	2.000	0.301029996	0.6627
S ₃	1	2.500	0.397940009	0.6497
	2	2.500	0.397940009	0.6511
	3	2.500	0.397940009	0.6526
S ₄	1	3.125	0.494850022	0.6058
	2	3.125	0.494850022	0.6061
	3	3.125	0.494850022	0.6096
S ₅	1	3.900	0.591064607	0.5993
	2	3.900	0.591064607	0.5997
	3	3.900	0.591064607	0.6002

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 3 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra los datos empleados el Día 3 de análisis para la generación de la curva estándar. Ésta se obtuvo graficando los valores de absorbancia obtenidos de los estándares en función del logaritmo decimal de sus concentraciones.

Determinación de la Curva Estándar por regresión simple: ABSORBANCIA vs. LOG10 CONC

Variable dependiente: ABSORBANCIA

Variable independiente: LOG10_CONC

$$\text{Lineal: } Y = a + b \cdot X$$

Coeficientes

<i>Parámetro</i>	<i>Mínimos Cuadrados Estimado</i>	<i>Estándar Error</i>	<i>Estadístico T</i>	<i>Valor-P</i>
Intercepto	0.767401	0.00774467	99.0877	0.0000
Pendiente	-0.299886	0.0184097	-16.2895	0.0000

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 3 de análisis.

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0.0252652	1	0.0252652	265.35	0.0000
Residuo	0.0012378	13	0.0000952153		
Total (Corr.)	0.026503	14			

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 3 de análisis.

Coeficiente de Correlación = -0.976369

R-cuadrada = 95.3296 por ciento

INTERPRETACIÓN

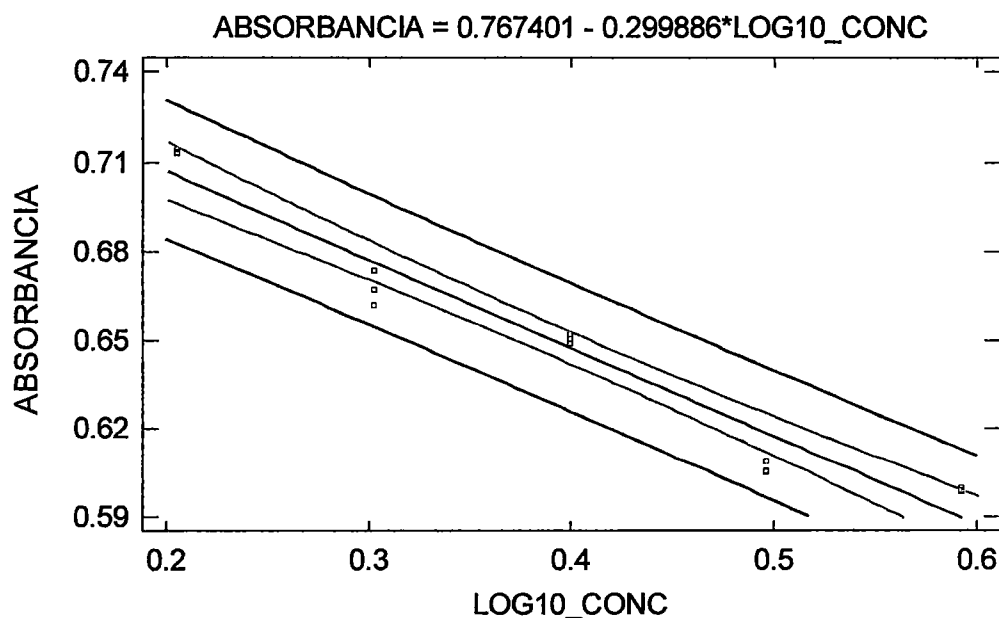
Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0.05, **existe una relación estadísticamente significativa entre ABSORBANCIA y LOG10_CONC** con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que **el modelo ajustado explica 95.3296% de la variabilidad en ABSORBANCIA**. El coeficiente de correlación es igual a -0.976369, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables ABSORBANCIA y LOG10_CONC. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 0.00975783.

DISCUSIÓN:

La absorbancia depende del logaritmo decimal de la concentración en un 97.64%. Existe una relación inversa entre las variables. A mayor concentración del antibiótico, la absorbancia leída será menor.

GRÁFICO N° 3: Del modelo ajustado correspondiente al Día 3 de análisis.



FUENTE: Obtenido a partir de los datos mostrados en la TABLA N° 12 utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV). 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN

El gráfico anterior corresponde a la curva estándar generada a partir de la regresión simple de la absorbancia en función del logaritmo decimal de cada uno de los estándares. Se puede observar que la relación entre la ABSORBANCIA y el LOG10_CONC, es inversa. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

DISCUSIÓN:

La absorbancia depende del logaritmo decimal de la concentración en un 97.64%. Existe una relación inversa entre las variables. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

4.1.3.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA

TABLA N° 13: Resumen de los resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de cápsulas.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	% de potencia antibiótica
C ₁	1	2.637	105.49
	2	2.599	103.96
	3	2.503	100.12
C ₂	1	2.865	114.61
	2	2.839	113.56
	3	2.912	116.47
C ₃	1	2.385	95.39
	2	2.442	97.69
	3	2.329	93.15
C ₄	1	2.850	113.99
	2	2.861	114.43
	3	2.932	117.28
C ₅	1	2.764	110.55
	2	2.674	106.96
	3	2.707	108.28

Donde: C₁, C₂, C₃, C₄ y C₅: Muestras problema empleadas el Día 3 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN:

La tabla anterior expone los resultados de concentración de las muestras de cápsulas correspondientes al Día 3 de análisis, los mismos que fueron calculados a partir de la ecuación de la línea de la curva estándar obtenida por regresión lineal.

El % de potencia antibiótica de las muestras problema se determinó en función a la **mediana de la concentración** (estándar 3: S₃), cuya concentración es conocida (2.500µg/mL) y corresponde a un 100% de potencia.

DISCUSIÓN:

Los porcentajes de potencia antibiótica de las muestras se encuentran dentro del rango que especifica la USP-35/NF-30, la misma que indica que para el antibiótico cloranfenicol no debe ser menor que 90% ni mayor que 120%. Los valores obtenidos no varían significativamente por día debido a que la determinación se llevó a cabo a las mismas condiciones.

4.1.4 ANÁLISIS COMPARATIVO DE DATOS (DÍA 1, DÍA 2 Y DÍA 3)

Para un estudio comparativo de los datos correspondientes a los tres días de análisis se procedió con el análisis de varianza de varios factores para el % de potencia antibiótica (**Prueba ANOVA Multifactorial**).

Éste análisis realiza varias pruebas y gráficas para determinar qué factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el % de potencia antibiótica. También evalúa la significancia de las interacciones entre los factores.

ANOVA MULTIFACTORIAL - % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA

Variable dependiente: % de potencia antibiótica

Factores:

MUESTRA

DÍA

Número de casos completos: 90 (30 por día: 15 correspondientes a estándares y 15 a muestras problema).

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA

TABLA N° 14: Análisis de Varianza para % de potencia antibiótica de las muestras de cápsulas evaluadas los días 1, 2 y 3.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:MUESTRA	50853.8	9	5650.42	3351.21	0.0000
B:DÍA	2.49054	2	1.24527	0.74	0.4821
INTERACCIONES					
AB	10.0551	18	0.558616	0.33	0.9942
RESIDUOS	101.165	60	1.68609		
TOTAL (CORREGIDO)	50967.5	89			

FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días análisis utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS

En la tabla anterior se observa la variación de los resultados del % de potencia antibiótica tomando como efectos principales los factores MUESTRA y DÍA.

Puesto que el valor-P correspondiente al factor MUESTRA es menor que 0.05 se concluye que existe una diferencia significativa entre las mismas con un 95.0% de nivel de confianza, lo que indica que ninguna de las 5 muestras evaluadas es igual que otra. Todas presentan un % de potencia antibiótica diferente.

En el caso del factor DÍA, no existe una variación significativa ya que el valor-P es mayor que 0.05. Esto indica que las condiciones de análisis por día no afectaron en gran medida los resultados obtenidos.

MEDIAS POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA EL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA CON INTERVALOS DE CONFIANZA DEL 95.0%

TABLA N° 15: Medias del % de potencia antibiótica de las muestras de cápsulas por muestra.

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error Est.</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
1	9	64.0	0.432831	63.1342	64.8658
2	9	80.0	0.432831	79.1342	80.8658
3	9	100.0	0.432831	99.1342	100.866
4	9	125.0	0.432831	124.134	125.866
5	9	156.0	0.432831	155.134	156.866
6	9	103.536	0.432831	102.670	104.401
7	9	114.939	0.432831	114.073	115.805
8	9	95.4122	0.432831	94.5464	96.2780
9	9	116.429	0.432831	115.563	117.295
10	9	108.89	0.432831	108.024	109.756

Donde: Los niveles 6, 7, 8, 9 y 10 corresponden a las medias del % de potencia antibiótica de las muestras problema de cápsulas evaluadas los días 1, 2 y 3. Los niveles anteriores corresponden a los estándares.

FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días análisis utilizando el Software STATGRAPHICS CENTURION.

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS:

En la tabla anterior se consignan las medias, por cada nivel, de los 9 casos correspondientes a los tres días de análisis. Podemos observar que las medias del % de potencia antibiótica de todas las muestras problema se encuentran dentro del rango establecido en Farmacopea de los Estados Unidos vigente (USP-35/NF-30) que considera que el antibiótico cloranfenicol no debe poseer un % de potencia antibiótica menor de 90% ni mayor de 120%.

Asimismo se observa que ninguna de las 5 muestras evaluadas es igual que otra. Todas presentan un % de potencia antibiótica diferente.

TABLA N° 16: Medias de % de potencia antibiótica de las muestras de cápsulas por día.

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error Est.</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
1	30	106.395	0.237071	105.92	106.869
2	30	106.636	0.237071	106.162	107.11
3	30	106.231	0.237071	105.757	106.705
MEDIA GLOBAL	90	106.421			

Donde: 1, 2 y 3 corresponden a cada uno de los días de análisis.

FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días análisis utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS

Esta tabla muestra las medias de los 30 casos evaluados por día de análisis. No se observa una variación significativa por día, lo cual indica que las muestras problema fueron analizadas a las mismas condiciones. Se obtuvo una media global de 106.421%, la cual corresponde a los 90 casos evaluados incluidos estándares y muestras problema.

TABLA N° 17: Medias del % de potencia antibiótica de muestras de cápsulas por día y muestra.

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error Est.</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
MUESTRA por DÍA					
1,1	3	64.0	0.749686	62.5004	65.4996
1,2	3	64.0	0.749686	62.5004	65.4996
1,3	3	64.0	0.749686	62.5004	65.4996
2,1	3	80.0	0.749686	78.5004	81.4996
2,2	3	80.0	0.749686	78.5004	81.4996
2,3	3	80.0	0.749686	78.5004	81.4996
3,1	3	100.0	0.749686	98.5004	101.5
3,2	3	100.0	0.749686	98.5004	101.5
3,3	3	100.0	0.749686	98.5004	101.5
4,1	3	125.0	0.749686	123.5	126.5
4,2	3	125.0	0.749686	123.5	126.5
4,3	3	125.0	0.749686	123.5	126.5
5,1	3	156.0	0.749686	154.5	157.5
5,2	3	156.0	0.749686	154.5	157.5
5,3	3	156.0	0.749686	154.5	157.5
6,1	3	103.537	0.749686	102.037	105.036
6,2	3	103.88	0.749686	102.38	105.38
6,3	3	103.19	0.749686	101.69	104.69
7,1	3	114.587	0.749686	113.087	116.086
7,2	3	115.35	0.749686	113.85	116.85
7,3	3	114.88	0.749686	113.38	116.38
8,1	3	95.0867	0.749686	93.5871	96.5863
8,2	3	95.74	0.749686	94.2404	97.2396
8,3	3	95.41	0.749686	93.9104	96.9096
9,1	3	117.377	0.749686	115.877	118.876
9,2	3	116.677	0.749686	115.177	118.176
9,3	3	115.233	0.749686	113.734	116.733
10,1	3	108.36	0.749686	106.86	109.86
10,2	3	109.713	0.749686	108.214	111.213
10,3	3	108.597	0.749686	107.097	110.096

Donde: Los niveles 6, 7, 8, 9 y 10 corresponden a las medias del % de potencia antibiótica de las muestras problema de cápsulas evaluadas los días 1, 2 y 3. Los niveles anteriores corresponden a los estándares.

FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días análisis utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS

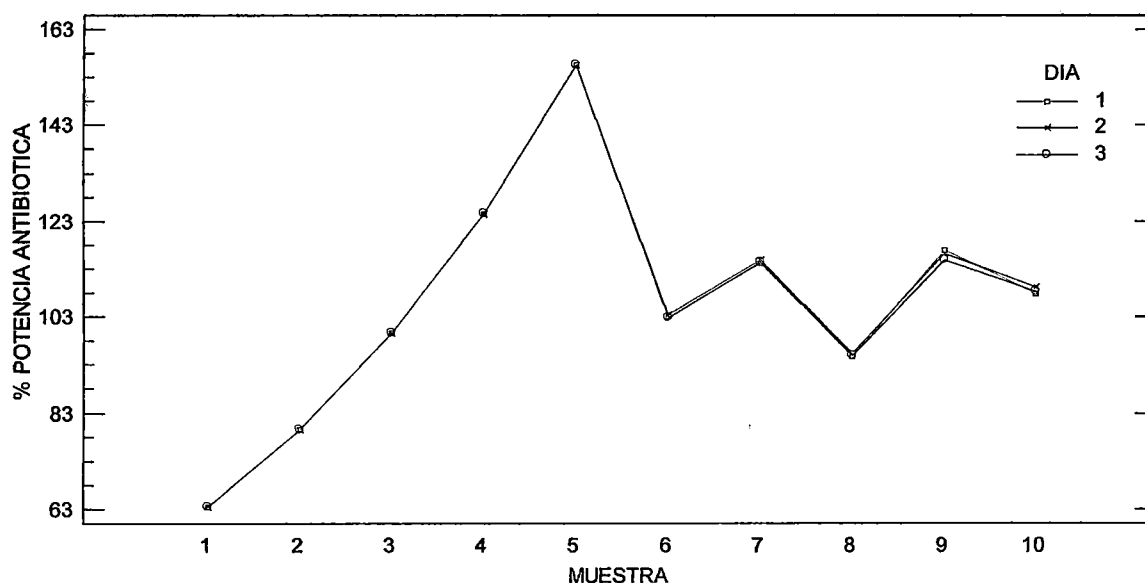
Esta tabla expone la media, del % de potencia antibiótica de cada una de las muestras por día (tres repeticiones por día).

Se observa que la variación de los resultados del % de potencia antibiótica de las muestras problema no es significativa por día, sin embargo sí por muestra.

Esto es porque las 5 muestras problema empleadas en el análisis de determinación de % de potencia antibiótica son de diferente procedencia (Laboratorio productor).

No hay una variación significativa por día ya que para cada día de análisis las condiciones tanto de preparación de inóculo, estándares, muestras, etc. como de análisis, se controlaron estrictamente.

GRÁFICO N° 4: Medias del % de potencia antibiótica de muestras de cápsulas por día y muestra.



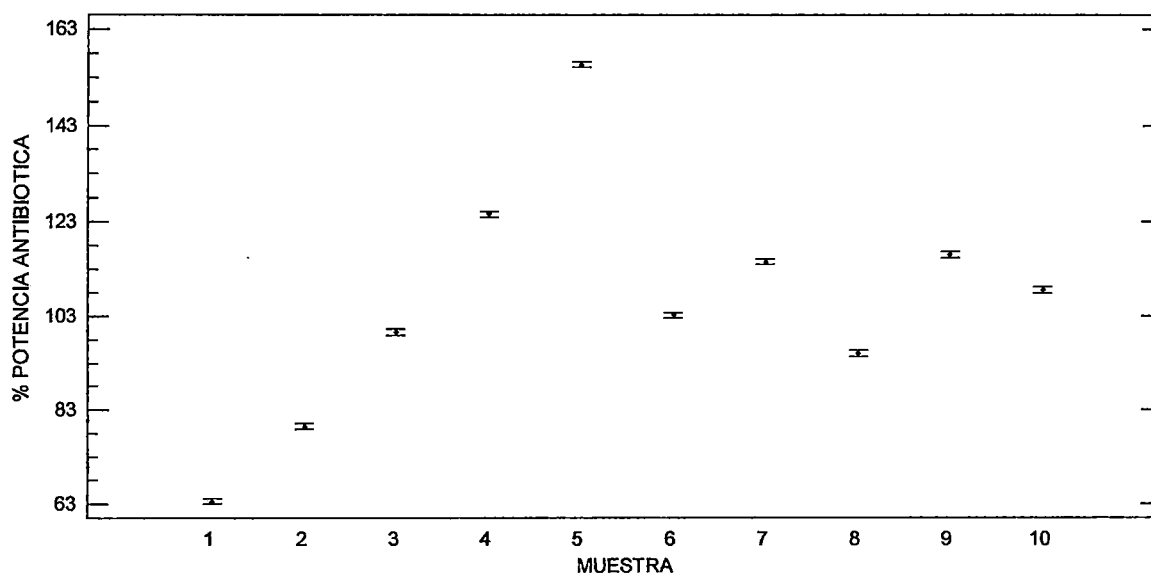
FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días de análisis utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS

Las 3 líneas trazadas en la gráfica representan cada uno de los días de análisis. Se puede observar que no hay una variación significativa por día.

Los resultados del % de potencia antibiótica de las muestras problema varían significativamente por muestra, ninguna tiene un resultado similar a otra, lo cual se debe a que cada una de ellas es de distinta procedencia.

GRÁFICO N° 5: Medias del % de potencia antibiótica de cápsulas por muestra.



FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días de análisis utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS:

Esta gráfica muestra la media de % de potencia antibiótica para cada uno de los niveles de muestra problema. Según el gráfico los resultados del % de potencia antibiótica de las muestras varían significativamente por muestra analizada, pero todas ellas se acercan al 100 % de potencia antibiótica que corresponde a la mediana de la concentración con la que fueron comparadas.

4.2 PARA CLORANFENICOL 250 mg/5mL (SUSPENSIÓN ORAL)

4.2.1 DÍA 1

4.2.1.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS

TABLA N° 18: Lecturas de absorbancia de los estándares correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Estándar	Concentración (µg/mL)	Repetición	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
S ₁	1.600	1	0.6708	0.67080	0.000400000
		2	0.6712		
		3	0.6704		
S ₂	2.000	1	0.6509	0.65183	0.001137248
		2	0.6515		
		3	0.6531		
S ₃	2.500	1	0.6375	0.63713	0.000351188
		2	0.6368		
		3	0.6371		
S ₄	3.125	1	0.6012	0.60057	0.000568624
		2	0.6004		
		3	0.6001		
S ₅	3.900	1	0.5653	0.56517	0.000513160
		2	0.5646		
		3	0.5656		

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 1 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 1 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de los estándares (de concentración conocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evalúa por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada uno de los estándares y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

Los valores de absorbancia de los estándares disminuyen a medida que la concentración de los mismos aumenta lo cual indica que existe una relación inversa

entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se puede explicar porque a mayor concentración del antibiótico la concentración del microorganismo de prueba disminuirá notablemente, lo cual se evidencia con la cantidad de luz absorbida luego del tratamiento (Absorbancia).

TABLA N° 19: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
C ₁	1	---	0.6208	0.62047	0.000945163
	2	---	0.6212		
	3	---	0.6194		
C ₂	1	---	0.6063	0.60693	0.001184624
	2	---	0.6083		
	3	---	0.6062		

Donde: C₁ y C₂: Muestras problema empleadas el Día 1 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 1 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de las muestras problema (de concentración desconocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evalúa por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada una de las muestras y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

A medida que se incrementa la concentración de los estándares, las lecturas de absorbancia de los mismos disminuyen, lo cual indica que existe una relación inversa entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se pudo explicar porque a mayor concentración del antibiótico la concentración del microorganismo de prueba disminuirá notablemente, lo cual se evidencia con la cantidad de luz absorbida luego del tratamiento (Absorbancia).

4.2.1.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR

TABLA N° 20: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Estándar	Repetición	Concentración (µg/mL)	Log10_Conc	Absorbancia
S ₁	1	1.600	0.204119983	0.6708
	2	1.600	0.204119983	0.6712
	3	1.600	0.204119983	0.6704
S ₂	1	2.000	0.301029996	0.6509
	2	2.000	0.301029996	0.6515
	3	2.000	0.301029996	0.6531
S ₃	1	2.500	0.397940009	0.6375
	2	2.500	0.397940009	0.6368
	3	2.500	0.397940009	0.6371
S ₄	1	3.125	0.494850022	0.6012
	2	3.125	0.494850022	0.6004
	3	3.125	0.494850022	0.6001
S ₅	1	3.900	0.591064607	0.5653
	2	3.900	0.591064607	0.5646
	3	3.900	0.591064607	0.5656

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 1 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra los datos empleados el Día 1 de análisis para la generación de la curva estándar. Ésta se obtuvo graficando los valores de absorbancia obtenidos de los estándares en función del logaritmo decimal de sus concentraciones.

Determinación de la Curva Estándar por regresión simple: ABSORBANCIA vs. LOG10 CONC

Variable dependiente: ABSORBANCIA

Variable independiente: LOG10_CONC

$$\text{Lineal: } Y = a + b \cdot X$$

Coeficientes

Parámetro	Mínimos Cuadrados Estimado	Estándar Error	Estadístico T	Valor-P
Intercepto	0.732999	0.00607335	120.691	0.0000
Pendiente	-0.271238	0.0144369	-18.7879	0.0000

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 1 de análisis.

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0.0206687	1	0.0206687	352.98	0.0000
Residuo	0.000761203	13	0.0000585541		
Total (Corr.)	0.0214299	14			

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 1 de análisis.

Coefficiente de Correlación = -0.982079

R-cuadrada = 96.4479 por ciento

INTERPRETACIÓN

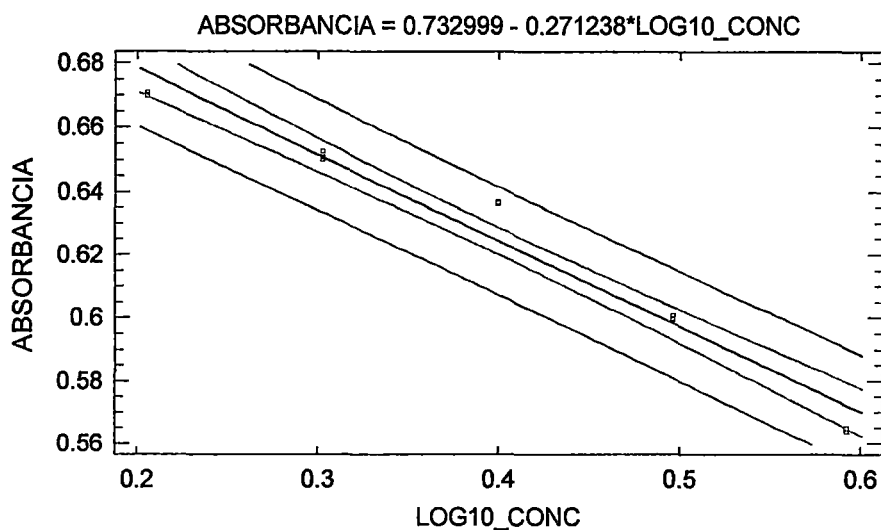
Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0.05, **existe una relación estadísticamente significativa entre ABSORBANCIA y LOG10_CONC** con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que **el modelo ajustado explica 96.4479% de la variabilidad en ABSORBANCIA**. El coeficiente de correlación es igual a -0.982079, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables ABSORBANCIA Y LOG10_CONC. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 0.00765207.

DISCUSIÓN:

La absorbancia depende del logaritmo decimal de la concentración en un 98.21%. Existe una relación inversa entre las variables. A mayor concentración del antibiótico, la absorbancia leída será menor.

GRÁFICO N° 6: Del modelo ajustado correspondiente al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.



FUENTE: Obtenido a partir de los datos mostrados en la TABLA N° 20 utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN

El gráfico anterior corresponde a la curva estándar generada a partir de la regresión simple de la absorbancia en función del logaritmo decimal de cada uno de los estándares. Se puede observar que la relación entre la ABSORBANCIA y el LOG10_CONC, es inversa. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

DISCUSIÓN:

La absorbancia depende del logaritmo decimal de la concentración en un 98.21%. Existe una relación inversa entre las variables. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

4.2.1.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA

TABLA N° 21: Resumen de los resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	% de potencia antibiótica
C ₁	1	2.592	103.70
	2	2.584	103.35
	3	2.623	104.94
C ₂	1	2.932	117.29
	2	2.883	115.31
	3	2.935	117.38

Donde: C₁, y C₂: Muestras problema empleadas el Día 1 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN:

La tabla anterior expone los resultados de concentración de las muestras de suspensión oral correspondientes al Día 1 de análisis, los mismos que fueron calculados a partir de la ecuación de la línea de la curva estándar obtenida por regresión lineal.

El % de potencia antibiótica de las muestras problema se determinó en función a la mediana de la concentración (estándar 3: S₃), cuya concentración es conocida (2.500µg/mL) y corresponde a un 100% de potencia.

DISCUSIÓN:

Los porcentajes de potencia antibiótica de las muestras se encuentran dentro del rango que especifica la USP-35/NF-30, la misma que indica que para el antibiótico cloranfenicol no debe ser menor que 90% ni mayor que 120%. Los valores obtenidos no varían significativamente por día debido a que la determinación se llevó a cabo a las mismas condiciones.

4.2.2 DÍA 2

4.2.2.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS

TABLA N° 22: Lecturas de absorbancia de los estándares correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Estándar	Concentración (µg/mL)	Repetición	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
S ₁	1.600	1	0.7003	0.70063	0.000305505
		2	0.7007		
		3	0.7009		
S ₂	2.000	1	0.6679	0.66920	0.001473092
		2	0.6689		
		3	0.6708		
S ₃	2.500	1	0.6514	0.65163	0.00136504
		2	0.6531		
		3	0.6504		
S ₄	3.125	1	0.6060	0.60583	0.000960902
		2	0.6048		
		3	0.6067		
S ₅	3.900	1	0.5905	0.59047	0.000650641
		2	0.5911		
		3	0.5898		

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 2 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 2 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de los estándares (de concentración conocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evalúa por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada uno de los estándares y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

Los valores de absorbancia de los estándares disminuyen a medida que la concentración de los mismos aumenta lo cual indica que existe una relación inversa entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se puede explicar porque a

mayor concentración del antibiótico la concentración del microorganismo de prueba disminuirá notablemente, lo cual se evidencia con la cantidad de luz absorbida luego del tratamiento (Absorbancia).

TABLA N° 23: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
C ₁	1	U ₁₋₁	0.6379	0.63790	0.0006
	2	U ₁₋₂	0.6385		
	3	U ₁₋₃	0.6373		
C ₂	1	U ₂₋₁	0.6244	0.62390	0.0007
	2	U ₂₋₂	0.6231		
	3	U ₂₋₃	0.6242		

Donde: C₁ y C₂: Muestras problema empleadas el Día 2 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 2 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de las muestras problema (de concentración desconocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evalúa por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada una de las muestras y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

A medida que se incrementa la concentración de los estándares, las lecturas de absorbancia de los mismos disminuye, lo cual indica que existe una relación inversa entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se puede explicar porque a mayor concentración del antibiótico la concentración del microorganismo de prueba disminuirá notablemente, lo cual se evidencia con la cantidad de luz absorbida luego del tratamiento (Absorbancia).

4.2.2.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR

TABLA N° 24: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 2 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Estándar	Repetición	Concentración (µg/mL)	Log10_Conc	Absorbancia
S ₁	1	1.600	0.204119983	0.7003
	2	1.600	0.204119983	0.7007
	3	1.600	0.204119983	0.7009
S ₂	1	2.000	0.301029996	0.6679
	2	2.000	0.301029996	0.6689
	3	2.000	0.301029996	0.6708
S ₃	1	2.500	0.397940009	0.6514
	2	2.500	0.397940009	0.6531
	3	2.500	0.397940009	0.6504
S ₄	1	3.125	0.494850022	0.6060
	2	3.125	0.494850022	0.6048
	3	3.125	0.494850022	0.6067
S ₅	1	3.900	0.591064607	0.5905
	2	3.900	0.591064607	0.5911
	3	3.900	0.591064607	0.5898

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 2 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra los datos empleados el Día 2 de análisis para la generación de la curva estándar. Ésta se obtuvo graficando los valores de absorbancia obtenidos de los estándares en función del logaritmo decimal de sus concentraciones.

Determinación de la Curva Estándar por regresión simple: ABSORBANCIA vs. LOG10 CONC

Variable dependiente: ABSORBANCIA

Variable independiente: LOG10_CONC

$$\text{Lineal: } Y = a + b \cdot X$$

Coeficientes

Parámetro	Mínimos Cuadrados Estimado	Estándar Error	Estadístico T	Valor-P
Intercepto	0.760186	0.00505479	150.389	0.0000
Pendiente	-0.293193	0.0120157	-24.4009	0.0000

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 2 de análisis.

Análisis de Varianza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	0.0241501	1	0.0241501	595.40	0.0000
Residuo	0.000527291	13	0.0000405608		
Total (Corr.)	0.0246774	14			

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 2 de análisis.

Coefficiente de Correlación = -0.989259

R-cuadrada = 97.8633 por ciento

INTERPRETACIÓN

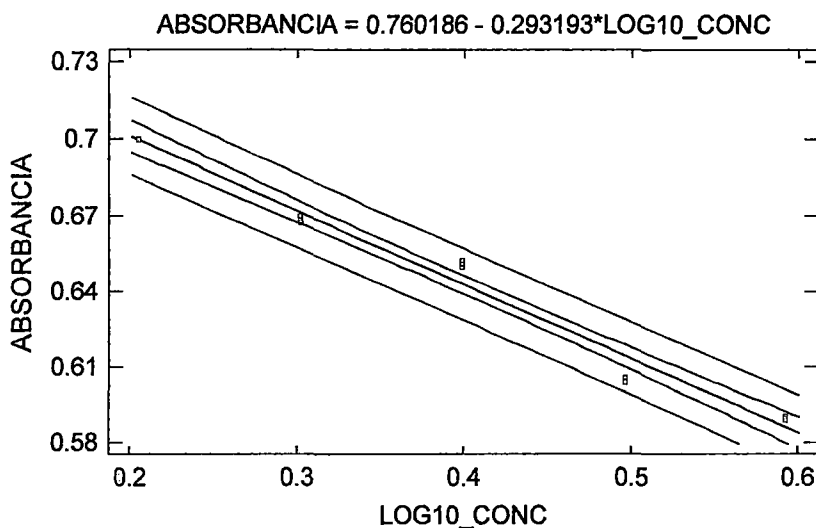
Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0.05, **existe una relación estadísticamente significativa entre ABSORBANCIA y LOG10_CONC** con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que **el modelo ajustado explica 97.8633% de la variabilidad en ABSORBANCIA**. El coeficiente de correlación es igual a -0.989259, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables ABSORBANCIA y LOG10_CONC. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 0.00636874.

DISCUSIÓN:

La absorbancia depende del logaritmo decimal de la concentración en un 98.91%. Existe una relación inversa entre las variables. A mayor concentración del antibiótico, la absorbancia leída será menor.

GRÁFICO N° 7: Del modelo ajustado correspondiente al Día 2 de análisis de las muestras de suspensión oral.



FUENTE: Obtenido a partir de los datos mostrados en la TABLA N° 24 utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN

El gráfico anterior corresponde a la curva estándar generada a partir de la regresión simple de la absorbancia en función del logaritmo decimal de cada uno de los estándares. Se puede observar que la relación entre la ABSORBANCIA y el LOG10_CONC, es inversa. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

DISCUSIÓN:

La absorbancia depende del logaritmo decimal de la concentración en un 98.91%. Existe una relación inversa entre las variables. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

4.2.2.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA

TABLA N° 25: Resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 2 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	% de potencia antibiótica
C ₁	1	2.573	102.90
	2	2.587	103.47
	3	2.632	105.27
C ₂	1	2.876	115.03
	2	2.829	113.15
	3	2.947	117.87

Donde: C₁ y C₂: Muestras problema empleadas el Día 2 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN:

La tabla anterior expone los resultados de concentración de las muestras de suspensión oral correspondientes al Día 2 de análisis, los mismos que fueron calculados a partir de la ecuación de la línea de la curva estándar obtenida por regresión lineal.

El % de potencia antibiótica de las muestras problema se determinó en función a la **mediana de la concentración** (estándar 3: S₃), cuya concentración es conocida (2.500µg/mL) y corresponde a un 100% de potencia.

DISCUSIÓN:

Los porcentajes de potencia antibiótica de las muestras se encuentran dentro del rango que especifica la USP-35/NF-30, la misma que indica que para el antibiótico cloranfenicol no debe ser menor que 90% ni mayor que 120%. Los valores obtenidos no varían significativamente por día debido a que la determinación se llevó a cabo a las mismas condiciones.

4.2.3 DÍA 3

4.2.3.1 LECTURAS DE ABSORBANCIA OBTENIDAS LUEGO DEL ANÁLISIS

TABLA N° 26: Lecturas de absorbancia de los estándares correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Estándar	Concentración (µg/mL)	Repetición	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
S ₁	1.600	1	0.7135	0.71327	0.000776745
		2	0.7124		
		3	0.7139		
S ₂	2.000	1	0.6762	0.66887	0.006658328
		2	0.6672		
		3	0.6632		
S ₃	2.500	1	0.6499	0.65070	0.001216553
		2	0.6501		
		3	0.6521		
S ₄	3.125	1	0.6055	0.60647	0.001059874
		2	0.6063		
		3	0.6076		
S ₅	3.900	1	0.5998	0.59973	0.000602771
		2	0.5991		
		3	0.6003		

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 3 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 3 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de los estándares (de concentración conocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evalúa por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada uno de los estándares y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

Los valores de absorbancia de los estándares disminuyen a medida que la concentración de los mismos aumenta lo cual indica que existe una relación inversa entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se puede explicar porque a

mayor concentración del antibiótico la concentración del microorganismo de prueba disminuirá notablemente, lo cual se evidencia con la cantidad de luz absorbida luego del tratamiento (Absorbancia).

TABLA N° 27: Lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras problema correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	Absorbancia	Absorbancia Promedio	Desviación
C ₁	1	---	0.6434	0.64277	0.000650641
	2	---	0.6421		
	3	---	0.6428		
C ₂	1	---	0.6266	0.62737	0.000929157
	2	---	0.6271		
	3	---	0.6284		

Donde: C₁ y C₂: Muestras problema empleadas en Día 1 de análisis.

FUENTE: Resultados de la valoración. Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra las lecturas de absorbancia correspondientes al Día 3 de análisis obtenidas luego del enfrentamiento de las muestras problema (de concentración desconocida) con el inóculo (*Escherichia coli* ATCC 10536) y la posterior inactivación del microorganismo con Formaldehído diluido. Cada tratamiento se evalúa por triplicado.

Asimismo se pueden observar los promedios de las lecturas de absorbancia para cada una de las muestras y su desviación estándar respectiva, que no resulta muy significativa ya que las absorbancias no varían notablemente en cada repetición.

DISCUSIÓN:

A medida que se incrementa la concentración de los estándares, las lecturas de absorbancia de los mismos disminuyen, lo cual indica que existe una relación inversa entre Absorbancia y Concentración. Este fenómeno se puede explicar porque a mayor concentración del antibiótico la concentración del microorganismo de prueba disminuirá notablemente, lo cual se evidencia con la cantidad de luz absorbida luego del tratamiento (Absorbancia).

4.2.3.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR

TABLA N° 28: Datos utilizados para generar la línea de la curva estándar correspondiente al Día 3 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Estándar	Repetición	Concentración (µg/mL)	Log10_Conc	Absorbancia
S ₁	1	1.600	0.204119983	0.7135
	2	1.600	0.204119983	0.7124
	3	1.600	0.204119983	0.7139
S ₂	1	2.000	0.301029996	0.6762
	2	2.000	0.301029996	0.6672
	3	2.000	0.301029996	0.6632
S ₃	1	2.500	0.397940009	0.6499
	2	2.500	0.397940009	0.6501
	3	2.500	0.397940009	0.6521
S ₄	1	3.125	0.494850022	0.6055
	2	3.125	0.494850022	0.6063
	3	3.125	0.494850022	0.6076
S ₅	1	3.900	0.591064607	0.5998
	2	3.900	0.591064607	0.5991
	3	3.900	0.591064607	0.6003

Donde: S₁, S₂, S₃, S₄ y S₅: estándares empleados el Día 3 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN

La tabla nos muestra los datos empleados el Día 3 de análisis para la generación de la curva estándar. Ésta se obtuvo graficando los valores de absorbancia obtenidos de los estándares en función del logaritmo decimal de sus concentraciones

Determinación de la Curva Estándar por regresión simple: ABSORBANCIA vs. LOG10 CONC

Variable dependiente: ABSORBANCIA

Variable independiente: LOG10_CONC

$$\text{Lineal: } \hat{Y} = a + b \cdot \hat{X}$$

Coeficientes

Parámetro	Mínimos Cuadrados Estimado	Estándar Error	Estadístico T	Valor-P
Intercepto	0.766828	0.00767983	99.8496	0.0000
Pendiente	-0.299198	0.0182556	-16.3894	0.0000

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 3 de análisis.

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	0.0251495	1	0.0251495	268.61	0.0000
Residuo	0.00121716	13	0.0000936275		
Total (Corr.)	0.0263666	14			

FUENTE: Obtenido a partir de la regresión simple de los datos correspondiente al Día 3 de análisis.

Coefficiente de Correlación = -0.976646

R-cuadrada = 95.3837 por ciento

INTERPRETACIÓN

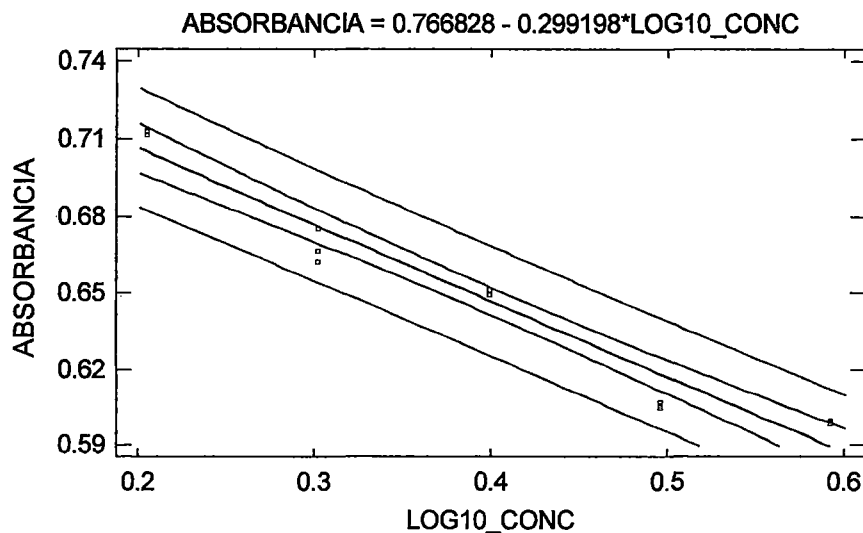
Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0.05, **existe una relación estadísticamente significativa entre ABSORBANCIA y LOG10_CONC** con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que **el modelo ajustado explica 95.3837% de la variabilidad en ABSORBANCIA**. El coeficiente de correlación es igual a -0.976646, indicando una relación relativamente fuerte entre las variables ABSORBANCIA y LOG10_CONC. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 0.00967613.

DISCUSION:

La absorbancia depende del logaritmo decimal de la concentración en un 97.66%. Existe una relación inversa entre las variables. A mayor concentración del antibiótico, la absorbancia leída será menor.

GRÁFICO N° 8: Del modelo ajustado correspondiente al Día 1 de análisis de las muestras de suspensión oral.



FUENTE: Obtenido a partir de los datos mostrados en la TABLA N° 28 utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN

El gráfico anterior corresponde a la curva estándar generada a partir de la regresión simple de la absorbancia en función del logaritmo decimal de cada uno de los estándares. Se puede observar que la relación entre la ABSORBANCIA y el LOG10_CONC, es inversa. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

DISCUSIÓN:

La absorbancia depende del logaritmo decimal de la concentración en un 97.66%. Existe una relación inversa entre las variables. A mayor concentración de los estándares, menor lectura de absorbancia (evidencia la disminución de la concentración del inóculo).

4.2.3.3 RESULTADOS DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA

TABLA N° 29: Resultados de concentración y % de potencia antibiótica correspondientes al Día 3 de análisis de las muestras de suspensión oral.

Muestra	Repetición	Concentración (µg/mL)	% de potencia antibiótica
C₁	1	2.585	103.39
	2	2.611	104.43
	3	2.597	103.87
C₂	1	2.942	117.66
	2	2.930	117.21
	3	2.901	116.05

Donde: C₁, C₂, C₃, C₄ y C₅: Muestras problema empleadas el Día 3 de análisis.

FUENTE: Elaboración propia.

INTERPRETACIÓN:

La tabla anterior expone los resultados de concentración de las muestras de suspensión oral correspondientes al Día 3 de análisis, los mismos que fueron calculados a partir de la ecuación de la línea de la curva estándar obtenida por regresión lineal.

El % de potencia antibiótica de las muestras problema se determinó en función a la mediana de la concentración (estándar 3: S₃), cuya concentración es conocida (2.500µg/mL) y corresponde a un 100% de potencia.

DISCUSIÓN:

Los porcentajes de potencia antibiótica de las muestras se encuentran dentro del rango que especifica la USP-35/NF-30, la misma que indica que para el antibiótico cloranfenicol no debe ser menor que 90% ni mayor que 120%. Los valores obtenidos no varían significativamente por día debido a que la determinación se llevó a cabo a las mismas condiciones.

4.2.4 ANÁLISIS COMPARATIVO DE DATOS (DÍA 1, DÍA 2 Y DÍA 3)

Para un estudio comparativo de los datos correspondientes a los tres días de análisis se procedió con el análisis de varianza de varios factores para el % de potencia antibiótica (**Prueba ANOVA Multifactorial**):

Este análisis realiza varias pruebas y gráficas para determinar qué factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el % de potencia antibiótica. También evalúa la significancia de las interacciones entre los factores.

ANOVA MULTIFACTORIAL - % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA

Variable dependiente: % de potencia antibiótica

Factores:

MUESTRA

DÍA

Número de casos completos: 63 (21 por día: 15 correspondientes a estándares y 6 a muestras problema).

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA

TABLA N° 30: Análisis de Varianza para % de potencia antibiótica de las muestras de suspensión oral evaluadas los días 1, 2 y 3.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:MUESTRA	49087.9	6	8181.32	46631.58	0.0000
B:DIA	0.0601524	2	0.0300762	0.17	0.8430
INTERACCIONES					
AB	0.796914	12	0.0664095	0.38	0.9640
RESIDUOS	7.36873	42	0.175446		
TOTAL (CORREGIDO)	49096.2	62			

FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días análisis utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS

En la tabla anterior se observa la variación de los resultados del % de potencia antibiótica tomando como efectos principales los factores MUESTRA y DÍA.

Puesto que el valor-P correspondiente al factor MUESTRA es menor que 0.05 se concluye que existe una diferencia significativa entre las mismas con un 95.0% de nivel de confianza, lo que indica que ninguna de las 5 muestras evaluadas es igual que otra. Todas presentan un % de potencia antibiótica diferente.

En el caso del factor DÍA, no existe una variación significativa ya que el valor-P es mayor que 0.05. Esto indica que las condiciones de análisis por día no afectaron en gran medida los resultados obtenidos.

MEDIAS POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA EL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA CON INTERVALOS DE CONFIANZA DEL 95.0%

TABLA N° 31: Medias del % de potencia antibiótica de las muestras de suspensión oral por muestra.

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error Est.</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
MEDIA GLOBAL	63	106.558			
1	9	64.0	0.139621	63.7182	64.2818
2	9	80.0	0.139621	79.7182	80.2818
3	9	100.0	0.139621	99.7182	100.282
4	9	125.0	0.139621	124.718	125.282
5	9	156.0	0.139621	155.718	156.282
6	9	104.137	0.139621	103.855	104.418
7	9	116.767	0.139621	116.485	117.048

Donde: Los niveles 6 y 7 corresponden a las medias del % de potencia antibiótica de las muestras problema de cápsulas evaluadas los días 1, 2 y 3. Los niveles anteriores corresponden a los estándares.

FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días análisis utilizando el Software STATGRAPHICS CENTURION.

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS:

En la tabla anterior se consignan las medias, por cada nivel, de los 9 casos correspondientes a los tres días de análisis. Podemos observar que las medias del % de potencia antibiótica de todas las muestras problema se encuentran dentro del rango establecido en la Farmacopea de los Estados Unidos vigente (USP-35/NF-30) que considera que el antibiótico cloranfenicol no debe poseer un % de potencia antibiótica menor de 90% ni mayor de 120%. Asimismo se observa que ninguna de las 2 muestras un % de potencia antibiótica igual.

TABLA N° 32: Medias del % de potencia antibiotica de las muestras de suspension oral por día.

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
1	21	106.522	0.0914034	106.338	106.707
2	21	106.598	0.0914034	106.413	106.782
3	21	106.553	0.0914034	106.368	106.737
MEDIA GLOBAL	63	106.558			

Donde: 1, 2 y 3 corresponden a cada uno de los días de análisis.

FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días análisis utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS

Esta tabla muestra las medias de los 21 casos evaluados por día de análisis. No se observa una variación significativa por día, lo cual indica que las muestras problema fuerón analizadas a las mismas condiciones. Se obtuvo una media global de 106.558%, la cual corresponde a los 63 casos evaluados incluidos estándares y muestras problema.

TABLA N° 33: Medias del % de potencia antibiótica de muestras de suspensión oral por día y muestra.

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error Est.</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
MUESTRA por DÍA					
1,1	3	64.0	0.241831	63.512	64.488
1,2	3	64.0	0.241831	63.512	64.488
1,3	3	64.0	0.241831	63.512	64.488
2,1	3	80.0	0.241831	79.512	80.488
2,2	3	80.0	0.241831	79.512	80.488
2,3	3	80.0	0.241831	79.512	80.488
3,1	3	100.0	0.241831	99.512	100.488
3,2	3	100.0	0.241831	99.512	100.488
3,3	3	100.0	0.241831	99.512	100.488
4,1	3	125.0	0.241831	124.512	125.488
4,2	3	125.0	0.241831	124.512	125.488
4,3	3	125.0	0.241831	124.512	125.488
5,1	3	156.0	0.241831	155.512	156.488
5,2	3	156.0	0.241831	155.512	156.488
5,3	3	156.0	0.241831	155.512	156.488
6,1	3	103.997	0.241831	103.509	104.485
6,2	3	104.517	0.241831	104.029	105.005
6,3	3	103.897	0.241831	103.409	104.385
7,1	3	116.660	0.241831	116.172	117.148
7,2	3	116.667	0.241831	116.179	117.155
7,3	3	116.973	0.241831	116.485	117.461

Donde: Los niveles 6 y 7 corresponden a las medias del % de potencia antibiótica de las muestras problema de cápsulas evaluadas los días 1, 2 y 3. Los niveles anteriores corresponden a los estándares.

FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días análisis utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

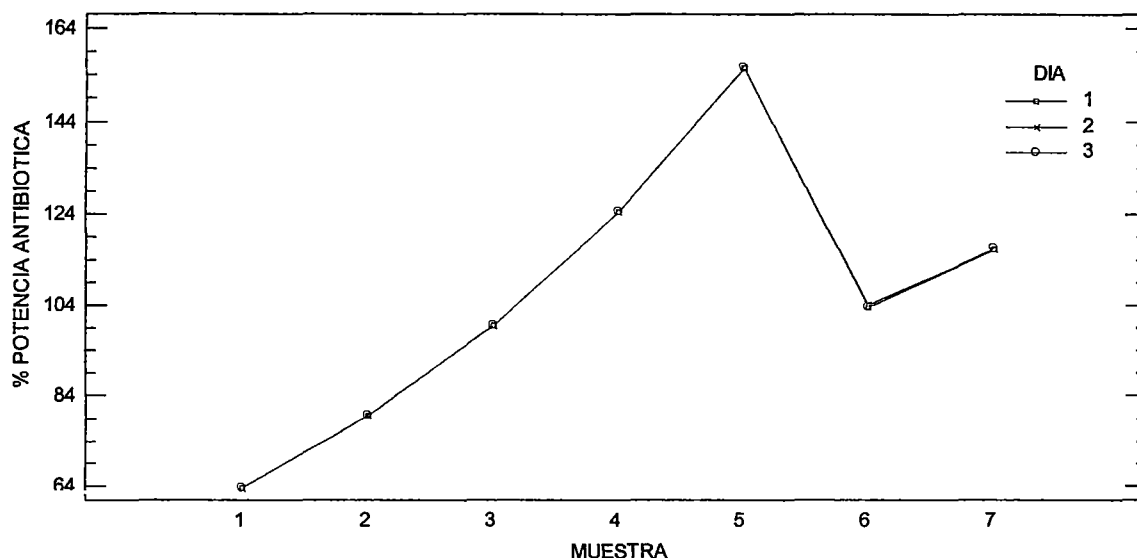
INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS

Esta tabla expone la media, del % de potencia antibiótica de cada una de las muestras por día (tres repeticiones por día).

Se observa que la variación de los resultados del % de potencia antibiótica de las muestras problema no es significativa por día, sin embargo sí por muestra. Esto es porque las 2 muestras problema empleadas en el análisis de determinación de % de potencia antibiótica son de diferente procedencia (Laboratorio productor).

No hay una variación significativa por día ya que para cada día de análisis las condiciones tanto de preparación de inóculo, estándares, muestras, etc. como de análisis, se controlaron estrictamente.

GRÁFICO N° 9: Medias de muestras de suspensión oral por día y muestra.



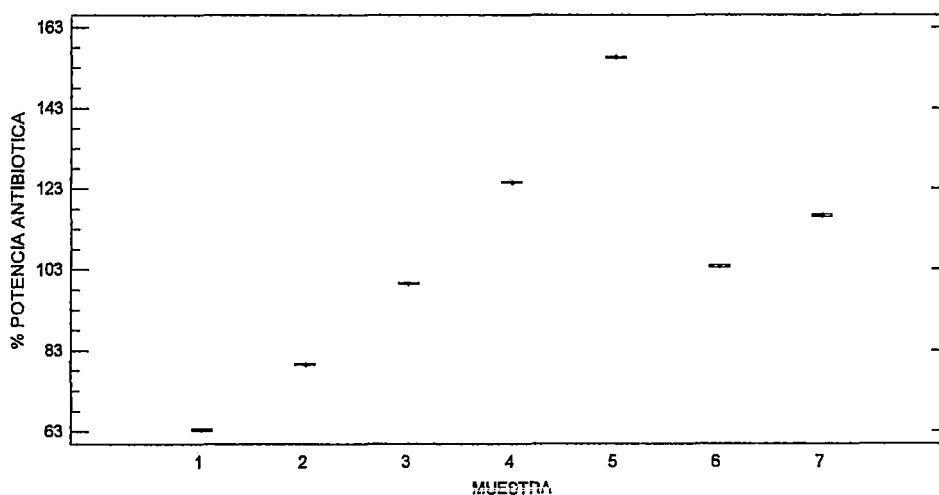
FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días de análisis utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS

Las 3 líneas trazadas en la gráfica representan cada uno de los días de análisis. Se puede observar que no hay una variación significativa por día.

Los resultados del % de potencia antibiotica de las muestras problema varían significativamente por muestra, ninguna tiene un resultado similar a otra, lo cual se debe a que cada una de ellas es de distinta procedencia.

GRÁFICO N° 10: Muestras de suspensión oral por muestra.



FUENTE: Obtenido a partir del estudio comparativo de los 3 días de análisis utilizando el Software Statgraphics Centurion 16.1.15 (XV).

INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS:

Esta gráfica muestra la media de % de potencia antibiótica para cada uno de los niveles de muestra problema. Según el gráfico los resultados del % de potencia antibiótica de las muestras varían significativamente por muestra analizada, pero todas ellas se acercan al 100 % de potencia antibiótica que corresponde a la mediana de la concentración con la que fueron comparadas.

CONCLUSIONES

1. Se logró determinar y comparar la potencia antibiótica de muestras comerciales y genéricas de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL) expandidas en boticas y farmacias de la ciudad de Cusco – 2012, frente a un estándar secundario.
2. Se determinó la potencia antibiótica de muestras comerciales y genéricas de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL) obteniéndose los siguientes resultados:
Para cápsulas 500 mg
 - Muestra 1- Genérico 1: 103.536 % de potencia antibiótica.
 - Muestra 2- Comercial 1: 114.939% de potencia antibiótica.
 - Muestra 3- Comercial 2: 95.4122% de potencia antibiótica.
 - Muestra 4- Genérico 2: 116.429% de potencia antibiótica.
 - Muestra 5- Genérico 3: 108.89% de potencia antibiótica.Para suspensión oral 250 mg/5mL
 - Muestra 1- Genérico: 104.137 % de potencia antibiótica.
 - Muestra 2- Comercial: 116.767% de potencia antibiótica.
3. Se logró comparar la potencia antibiótica tanto de muestras comerciales como genéricas de cloranfenicol (cápsulas 500 mg y suspensión oral 250 mg/5mL) frente a un estándar secundario, obteniéndose resultados satisfactorios que se encuentran dentro del rango de porcentaje de potencia antibiótica establecido en la Farmacopea de los Estados Unidos vigente (USP-35/NF-30).

SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES

A LOS FUTUROS INVESTIGADORES

▪ **Respecto a la obtención del inóculo:**

Se recomienda preparar 200 mL del medio antibiótico N° 1 en lugar de 250 mL para la obtención del cultivo de trabajo en el frasco Roux, de esa manera se evita que se derrame la suspensión de la cepa cuando se realice la cosecha de la misma con la ayuda de las perlas de vidrio, de la misma forma se sugiere ajustar la concentración del inóculo para cada análisis.

▪ **Respecto a la preparación de las soluciones estándar y muestras:**

Se realizarán los cálculos previos para obtener de esa manera los estándares con las diluciones adecuadas donde se debe considerar que la mediana de la concentración estándar que será igual a la de la concentración de trabajo que se pide para la muestra en nuestro caso 2,5 µg/mL.

Para homogenizar la solución madre del estándar y la muestra, antes de ser aforada se recomienda someterla a sonicación por aproximadamente 5 minutos o a agitación constante como mínimo por 15 minutos para una liberación completa del principio activo y se obtenga el efecto esperado considerar que se debe someter a las mismas condiciones a todas las diluciones tanto estándares como muestras para de esa manera obtener una uniformidad y confiabilidad en los resultados a obtenerse.

Para determinar la densidad de las suspensiones (muestras) se recomienda mantener a estas a una temperatura entre los 12 y 15 °C para que al momento de realizar el ensayo se obtenga el dato correcto el cual se realiza a una temperatura de 20 °C, de la misma forma se debe cerciorar de que no se hayan formado burbujas y que el picnómetro se encuentre exento de muestra.

- **Respecto al análisis:**

Se recomienda trabajar en una gradilla cual sea transportable y adaptable a las futuras condiciones de incubación es decir que sea la adecuada y que tolere las condiciones de incubación a la cual serán sometidos todos los tubos requeridos para el análisis de la misma forma se recomienda colocar los tubos indistintamente en cuanto a su distribución para la incubación.

En cuanto al control de la temperatura se recomienda usar un equipo calificado y calibrado de manera apropiada para obtener rangos de temperatura específicos se recomienda trabajar en un baño de agua ya que la capacidad térmica del agua representa una ventaja sobre el aire caliente circulante.

Después de haberse concluido el tiempo de incubación de la muestra realizar la inactivación de una forma rápida con el formaldehído diluido para de esa manera no generar alteraciones o datos falsos en el análisis ya que se considera que todas las soluciones deben ser tratadas bajo las mismas condiciones.

- **Respecto a la lectura de datos:**

La lectura de los datos se realizara a una absorbancia de 530 nm como nos indica la USP para lo cual también se recomienda tener todo el material de descarte y limpieza adecuados ya que se debe considerar que se está trabajando con organismos vivos por lo que se deberá tener a la mano solución de hipoclorito de sodio al 5% para los posibles derrames que se podría originar considerando que se debe tener mucho cuidado en para de esa manera evitar la contaminación del área de trabajo y equipo.

A LOS DOCENTES DE LA CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- Sugerirles que estimulen a los estudiantes de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica a realizar Proyectos de Investigación que estén relacionados con el Control de Calidad de la Industria Farmacéutica.

- Implementar los laboratorios para que se puedan realizar una mayor variedad de análisis en cuanto a control de calidad se refiere y de ese modo también se pueda capacitar a los estudiantes para su buen desempeño, desenvolvimiento y dominio de técnicas de análisis.
- Se sugiere que se consideren las pruebas y valoraciones biológicas en la sumilla de cursos relacionados al área de control de calidad y microbiología.

A LOS ALUMNOS DE LA CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

- Sugerirles que realicen más investigaciones respecto al control de calidad empleando el método turbidimétrico con otros antibióticos.
- A quienes estén interesados en desarrollar trabajos de investigación sobre Control de Calidad se les sugiere realicen sus prácticas pre-profesionales en Industrias Farmacéuticas a fin de que amplíen y adquieran conocimientos que les sean útiles en la posterior ejecución de su tesis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AZANZA, J. R.; HONORATO, J. y MEDIÁVILLA, A. "Farmacología Humana: Tetraciclinas, cloranfenicol y otros antibióticos" Editorial ElsevierMasson 5ta Ed. Secc. XI, Cap. 64 [en línea]. Santander, España: 2008 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<http://www.hcqho.sld.cu/joomla/Farmacologia%20II/recursos/tema2/bibliografia_complementaria/FI%C3%B3res-Tetraciclinas-cloranfenicol%202.8.pdf>
2. BIOSEGURIDAD EN LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA Y BIOMÉDICA. Cuarta Edición. Departamento de Salud y Servicios Humanos. Servicio de Salud Pública [en línea, consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://www.fqbf.unsl.edu.ar/cicua/Archivos/Manual-Bioseguridad-Lab-Microbiología.pdf>>
3. BLAZQUEZ RECIO, L. M. "Medicamentos Genéricos vs. Medicamentos de Marca". Medicina y Sociedad [en línea]. 2010 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://lamedicinaylasociedad.blogspot.com/2010/01/medicamentos-genericos-vs-medicamentos.html>>
4. GOODMAN Y GILMAN'S(2007) "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica" Undécima Edición, México: Editorial Mc Graw-Hill Interamericana.
5. CÁRDENAS SIFUENTES, D. M. y ASENCIOS JUÁREZ, D.G. "Evaluación de un método de ensayo microbiológico para determinar la potencia antibiótica de tilosina". Asesora: Mirtha Roque Alcarraz. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad De Farmacia y Bioquímica, Departamento Académico de Microbiología y Parasitología Aplicada. Tesis para optar al título profesional de químico farmacéutico [en línea]. Lima, Perú: 2008 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2008/cardenas_sd/pdf/cardenas_sd.pdf>
6. CARO CORTES, N. y CRUZ MÉNDEZ, Y. "Validación de las pruebas de esterilidad por la técnica de filtración por membrana y endotoxinas bacterianas por el método de LAL en 3 productos farmacéuticos". Pontificia

Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas, Carrera de Microbiología Industrial. Tesis presentada para optar el Título Profesional de Microbióloga Industrial [en línea]. Bogotá D.C, Colombia: 2006 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis272.pdf>>

7. COMITÉ INTERNACIONAL DE EDITORES DE REVISTAS MÉDICAS (ICMJE) "Requisitos de uniformidad para manuscritos enviados a revistas biomédicas: Ejemplos de referencia" Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU. (NLM) Institutos Nacionales de Salud [en línea]. Maryland, EEUU: 2010 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<[http://foietes.files.wordpress.com/2011/06/requisitos de uniformidad ejemplos de referencias 2010.pdf](http://foietes.files.wordpress.com/2011/06/requisitos-de-uniformidad-ejemplos-de-referencias-2010.pdf)>

8. CONGRESO PERUANO LEY N°29459: "Ley De Los Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios" [en línea]. Lima, Perú: 2009 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<<http://www.congreso.gob.pe/NTley/Imagenes/Leyes/29459.Pdf>>

9. DECRETO SUPREMO N° 233-2011-EF. 2011 "Valor de la Unidad Impositiva Tributaria durante el año 2012: Artículo 1 [en línea]. Lima, Perú: 2011 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<http://www.minedu.gob.pe/files/1236_201201031442.pdf>

10. DECRETO SUPREMO N° 25596 "Requisitos Para la Obtención del Registro Sanitario y de la Autorización Para la Importación y Comercialización de Medicamentos Genéricos y de Marca": Artículo 2 [en línea]. Lima, Perú: 1992 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<<http://docs.peru.justia.com/federales/decretos-leyes/25596-jun-30-1992.pdf>>

11. DECRETO SUPREMO N° 010-97-SA "Reglamento para el Registro, Control y Vigilancia Sanitaria de Productos Farmacéuticos y Afines": Artículo 120 [en línea]. Lima, Perú: 1997 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<<http://www.digemid.minsa.gob.pe/normatividad/DS01097.HTM>>

12. DÍAZ NAVARRO, R. A. "Uso de cloranfenicol/Amikacina en pacientes pediátricos con infección intraabdominal por apendicitis aguda". Universidad

Centrooccidental "Lisandro Alvarado". Trabajo presentado para optar el grado de Especialista en Cirugía Pediátrica [en línea]. Barquisimeto, Venezuela: 2005 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<<http://bibmed.ucla.edu.ve/DB/bmucla/edocs/textocompleto/TWI535D532005.pdf>>

13. DIAZ NIEVES, A.; BARCENA RUIZ, A.; FERNANDEZ REYES, E.; GALVÁN CEJUDO, A.; JORRIN NOVO, J., PEINADO PEINADO, J.; MELENDEZ VASQUEZ, F. y TUNEZ FIÑANA I. "Espectrofotometria: Espectros de Absorción y Cuantificación Colorimétrica de Biomoléculas" [Consultado 29-06-2012] Disponible en:

<[Http://www.slideshare.net/Asaor/Espectrofotometria-Presentation](http://www.slideshare.net/Asaor/Espectrofotometria-Presentation)>

14. DIGEMID "Manual de Buenas Prácticas de manufactura de productos farmacéuticos" [en línea]. Lima, Perú: 1999 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<<http://bvcenadim.digemid.minsa.gob.pe/lildbi/textcomp/PUBDIGEMID0007.pdf>>

15. DIGEMID-MINSA "Centro Nacional de Farmacovigilancia: ALERTA DIGEMID N° 28-2004" [en línea]. Lima, Perú: 2004 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<<http://www.digemid.minsa.gob.pe/alertas/alertas/ALERTAS28-2004.pdf>>

16. DIGEMID-MINSA "Centro Nacional de Farmacovigilancia: ALERTA DIGEMID N° 26-2007" [en línea]. Lima, Perú: 2007 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<<http://www.digemid.minsa.gob.pe/alertas/alertas/alerta%2026-07.pdf>>

17. DIGEMID-MINSA "Centro Nacional de Farmacovigilancia: ALERTA DIGEMID N° 66-2007" [en línea]. Lima, Perú: 2007 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<<http://www.digemid.minsa.gob.pe/alertas/alertas/ALERTA%2066-07%20PONSIA%20RD.pdf>>

18. DIGEMID-MINSA "Centro Nacional de Farmacovigilancia: ALERTA DIGEMID N° 11-2009" [en línea]. Lima, Perú: 2009 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://www.digemid.minsa.gob.pe/alertas/alertas/11-09%20ALERTA%20FALSIFICADOS.pdf>>
19. DIGEMID-MINSA "Centro Nacional de Farmacovigilancia: ALERTA DIGEMID N° 26-2010" [en línea]. Lima, Perú: 2010 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://www.digemid.minsa.gob.pe/alertas/alertas/ALERTA%2026-10%20FALSIFICADOS.pdf>>
20. DIGEMID-MINSA "Centro Nacional de Farmacovigilancia: ALERTAS DIGEMID" [en línea]. Lima, Perú: 2012 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://www.digemid.minsa.gob.pe/alertas/alertas2012.html>>
21. DIGEMID-MINSA "Evaluación de la Situación de los Medicamentos en el Perú" [en línea]. Lima, Perú: 2006 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://www.digemid.minsa.gob.pe/daum/urm/evasitmedicamentos.pdf>>
22. DIGEMID-MINSA "Observatorio de Productos Farmacéuticos. Sistema Nacional de Información de Precios" [en línea]. Lima, Perú: 2010 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://observatorio.digemid.minsa.gob.pe/?over=1>>
23. DIGEMID-MINSA: "Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas: Soporte Informativo" [en línea]. Lima, Perú: 2012 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://www.digemid.minsa.gob.pe/>>
24. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS USP35/NF30 (2012)
"Antibióticos-Valoraciones Microbiológicas" Cap. 81. Vol.1
25. FARMACOS "Libre Registro de Medicamentos En Perú" Red de Investigadores y Promotores del Uso Apropiado del Medicamento en América Latina (RUAMAL) El Paso (Texas), EEUU: 1998 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en: <<http://www.saludyfarmacos.org/wp-content/files/feb98.pdf>>

26. GALANO JIMENEZ, A. y ROJAS HERNANDEZ, A. "Química Analítica 1: Sustancias patrones para estandarización de ácidos y bases". Universidad Autónoma Metropolitana [en línea]. México D.F., México: 2012 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://agalano.com/Cursos/QuimAnal1/Patrones.pdf>>
27. GARCÍA PEÑA, Y. S. "Estudio comparativo del efecto antibacteriano invitro de amoxicilina de nombre genérico y de marca comercial frente a cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae* ATCC y aisladas de pacientes". Asesora: Mgt. Tatiana del Castillo Yañez. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Departamento Académico de Farmacia. Tesis Para Optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico. Cusco, Perú: 2006.
28. GENNARO A. R. (2003) "Remington Farmacia/ Remington The Science and Practice of Pharmacy. Pruebas, análisis y control farmacéuticos: antibióticos" 20a. Edición, México: Editorial Médica Panamericana.
29. GOMEZ-LUS M. L., CALVO A. y PRIETO J. (2008) "Farmacología Básica y Clínica, Velázquez: Antibióticos y quimioterápicos. Generalidades" 18a. Edición, Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
30. GUÍA DE MANEJO KWIK-STIK (MICROBIOLOGIST) Page 1 of 1 LIT.095 Rev.2004.06.14 [en línea]. 2009 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<http://www.biomedica.hu/fileadmin/user_upload/subsidiaries/hungary/kwik_2520stick.pdf>
31. KONEMAN, E.W. et al "Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology" 6° Edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2006 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<http://es.wikipedia.org/wiki/Est%C3%A1ndar_de_McFarland>
32. LABOMERSA S.A., DISTRIBUIDOR AUTORIZADO MERK C.A. "USP" [en línea, consultado el 23-06-2012] Disponible en:
<http://labomersa.com/index.php?option=com_content&view=article&id=85&Itemid=126>
33. LEY N° 26842, "Ley General de Salud" (vigente): Artículo 50 [en línea]. Lima, Perú: 1997 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<http://www.digemid.minsa.gob.pe/normatividad/LEY2684202.H1M>>

34. LEY N° 27657 “Ley del Ministerio de Salud”: Artículo 26 [en línea]. Lima, Perú: 2002 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<http://www.digemid.minsa.gob.pe/normatividad/LEY2765702.HTM>>

35. MANUAL BÁSICO DE MICROBIOLOGÍA, 2003 PANCREAT QUÍMICA S.A [en línea]. 2003 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<http://www.slideshare.net/sangel06/manual-de-medio-de-cultivos?unverified-email=stanvela7@hotmail.com>>

36. MATEOS, P. 2006. “Producción de Antibióticos”. [en línea, consultado el 23-06-2012] Disponible en: <http://nostoc.usal.es/sefin/MI/tema15MI.html>>

37. MÉNDEZ, P; DIAZ, J; SILVA, E; GONZÁLEZ, P; MORENO, E; AMAYA, P; SERRATO, N Y SÁENZ, E. (2005) “Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro”. Revista Colombiana de Ciencia, Química y Farmacia. Vol. 34, no. 2.

38. “MICROBIOLOGÍA: GLOSARIO”. SoloCiencia.com El Portal de Ciencia y Tecnología en Español [en línea, consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<http://www.solociencia.com/biologia/microbiologia.htm>>

39. MIRANDA MONTERO, J. J. “El mercado de medicamentos en el Perú: ¿libre o regulado?” Consorcio de Investigación Económica y Social (CIES) [en línea]. Lima, Perú: 2004 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

http://www.mef.gob.pe/contenidos/pol_econ/documentos/Medicamentos_competencia.pdt>

40. MIRANDA MONTERO, J. J. “El mercado de medicamentos en el Perú: ¿libre o regulado?” Economía y Sociedad 56, CIES [en línea]. Lima, Perú: 2005 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

http://www.gestiopolis.com/canales5/eco/consorcio/eys56/archivos/56-mercado_y_regulacion_de_medicamentos_y_farmacos_en_el_peru.pdf>

41. MONTROYA ROMEROLAS, M. I. “CEPAS ATCC: Herramienta indispensable en el Control de Calidad Interno en Microbiología” Instituto Colombiano de

Medicina Tropical [en línea]. Lima, Colombia: 2012 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

http://www.google.com.pe/url?sa=t&rci=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CFEQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.rlc.fao.org%2Fes%2Finocuidad%2Fcodex%2Fria3014%2Fpdf%2Fpresen4.pps&ei=mdn_l8a_CiOU8A1ApDU6Bw&usq=AFQjCNFPMMxig-U3e2UmUE8GvsObhWukig&sig2=r_tXGoPllak54NUJsZUUAQ

42. MORA MEZA, J. D. "Implementación y desarrollo de la Técnica de potencia Microbiológica de Antibióticos y su impacto económico en la Empresa Calox de Costa Rica, S.A.". Instituto Tecnológico de Costa Rica Escuela de Biología. Tesis para optar el título de Ingeniería en Biotecnología [en línea]. Cartago, Costa Rica: 2007 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

<http://es.scribd.com/doc/31960275/mora-meza-josedavid>

43. MORALES, J. "Control microbiológico de antibióticos. Curvas standard, determinación de potencia y preparación de discos para pruebas de sensibilidad". Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina. Tesis para optar el grado de Doctor en la Facultad de Medicina [en línea]. Lima, Perú: 2009 [consultado el 23-07-2012]. Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46341958000100001

44. MORALES, J. Y URQUIZO, S. "Valoración del cloranfenicol y sus esteres en especialidades farmacéuticas". División de control técnico del Instituto Nacional de Salud [en línea]. Lima, Perú: 2012 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:

http://www.sciclo.org.pe/sciclo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46341960000100001

45. PAREJA AIVAR, L. "Desarrollo y validación de un método analítico para la cuantificación de gentamicina en un producto farmacéutico en crema por potencia antibiótica". Asesor: Q.F. Miguel Francisco Sacsa Díaz. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Departamento Académico de Farmacia. Tesis Para Optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico. Cusco, Perú: 2012.

46. PEDRAZA ARIAS, P. N. y CASTELLANOS RIVERA, H.J. "Estudio Comparativo de la Actividad Antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de Antibióticos de Administración Intravenosa a través de Métodos in Vitro". Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera De Microbiología Industrial y Carrera De Bacteriología. Requisito parcial para optar el Título de Microbióloga y Bacteriología [en línea]. Bogotá D. C., Colombia: 2009 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis326.pdf>>
47. PERILLA, M. J. "Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo". Organización Mundial de la Salud [en línea]. Geneva, Switzerland: 2004 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s16330s/s16330s.pdf>>
48. QUEVEDO GANOZA, F. 2004. "El control de la calidad integral de los medicamentos". Revista Diagnóstico. 2004. Vol. 43, no. 2. Artículo preparado a invitación de la Fundación Instituto "Hipólito Unanue" [en línea]. Lima, Perú: 2004 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://www.tihu-diagnostico.org.pe/revista/numeros/2004/mar-abr04/94-96.html>>
49. QUIROGA VILLAGRA, J. G. "Introducción a la Microbiología Clínica" Universidad Nacional de Tucumán, Facultad de Medicina [en línea]. Tucumán, Argentina: 2009 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://www.monografias.com/trabajos16/microbiologia-clinica/microbiologia-clinica.shtml>>
50. RÍOS INSUA, A. "Biodisponibilidad y metabolismo de un derivado fluorado del tianfenicol en pollos Broiler". Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria, Departamento de Toxicología y Farmacología Memoria presentada para optar al grado de Doctor. Bajo la dirección de los Doctores: María Rosa Martínez-Larrañaga y Arturo Anadón Navarro [en línea]. Madrid, España: 2004 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<<http://eprints.ucm.es/tesis/vet/ucm-427090.pdf>>

51. SANIURU, M.B. "Medicamentos Genéricos". Defensoria Adjunta de la Ciudad de Buenos Aires. [en línea]. Buenos Aires, Argentina: 2009 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<http://www.ecoportel.net/Temas_Especiales/Salud/Los_Medicamentos_Genericos>
52. SNITKOFF, G. G. (2000) "Remington Farmacia: Valoraciones Microbiológicas" Tomo 1. Cap.31. Vigésima Edición [en línea]. Filadelfia, USA: Editorial Medica Panamericana S.A. [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<http://books.google.com.pe/books?id=AV4IIsyH-gcC&pg=PA635&lpg=PA635&dq=DETERMINACION%20potencia%20antimicrobiana&source=bl&ots=Vn7uR0Nu9t&sig=GSEH0imhdbqv525bwxYv5JC/tQ&hl=es&sa=X&ei=U7T_T4yPK4OQ8wTgga2YCA&ved=0CE4Q6AEwBQ#v=onepage&q&t=false>
53. UEMA. S. A. N.: CORREA SALDE. V. y FONTANA. D. "Manual para profesionales: Utilización del Nombre Genérico de los Medicamentos: Prescripción - Dispensación" Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Farmacia [en línea]. Córdoba, España: 2003 [consultado el 23-06-2012]. Disponible en:
<http://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CEgQFjAD&url=http%3A%2F%2Fwww.colfacor.org.ar%2FGenericos%2Fmanual%2520para%2520profesionales%25202003.doc&ei=Acj_T8PmF4mo8ATxxayGCA&usq-AFQjCNFuUvXNPN_Y322qiSM74UuU1i00AA&sig2-vFQ-v7a3BuxrfK0r0wdfZA>

ANEXOS

8

ANEXO N°1:

ANTIBIÓTICOS – VALORACIONES MICROBIOLÓGICAS

INTRODUCCIÓN E INFORMACIÓN GENERAL

En las condiciones adecuadas, la actividad (potencia) de los antibióticos puede demostrarse por su efecto inhibitor sobre los microorganismos. La reducción en la actividad microbiana puede ser difícil de demostrar por métodos químicos. La valoración microbiológica es el método analítico estándar.

Se utilizan dos técnicas generales: la valoración en cilindro-placa (o en placa) y la valoración turbidimétrica (o en tubo). La *Tabla 1* lista todos los antibióticos que incluyen valoraciones microbiológicas y especifica el tipo de valoración (cilindro-placa o turbidimétrica).

Tabla 1

Amfotericina B	Cilindro-placa
Bacitracina	Cilindro-placa
Bleomicina	Cilindro-placa
Capreomicina	Turbidimétrica
Carbenicilina	Cilindro-placa
Cloranfenicol	Turbidimétrica
Clortetraciclina	Turbidimétrica
Cloxacilina	Cilindro-placa
Colistimetato	Cilindro-placa
Colistina	Cilindro-placa
Dihidroestreptomicina	Cilindro-placa
	Turbidimétrica
Eritromicina	Cilindro-placa
Gentamicina	Cilindro-placa
Gramicidina	Turbidimétrica
Nafcilina	Cilindro-placa
Natamicina	Cilindro-placa
Neomicina	Cilindro-placa
	Turbidimétrica
Novobiocina	Cilindro-placa
Nistatina	Cilindro-placa
Oxitetraciclina	Turbidimétrica
Paromomicina	Cilindro-placa
Penicilina G	Cilindro-placa
Polimixina B	Cilindro-placa
Sisomicina	Cilindro-placa
Tetraciclina	Turbidimétrica
Tioestreptona	Turbidimétrica
Troleandomicina	Turbidimétrica
Tilosina	Turbidimétrica
Vancomicina	Cilindro-placa

[NOTA – Realizar todos los procedimientos descritos en las monografías asépticamente. Tomar las precauciones de seguridad adecuadas al realizar estas valoraciones debido a las posibles alergias a los fármacos y a que se usan cultivos vivos de organismos en los procedimientos.]

Valoración en cilindro-placa: La valoración en cilindro-placa se basa en la difusión del antibiótico desde un cilindro vertical a través de una capa de agar solidificado en un plato o placa de Petri. El crecimiento del microorganismo específico inoculado en el agar resulta inhibido en un área circular o *zona* en torno al cilindro que contiene la solución del antibiótico.

Valoración turbidimétrica: La valoración turbidimétrica se basa en la inhibición del crecimiento de un microorganismo en una solución uniforme del antibiótico en un medio fluido que favorezca el crecimiento del microorganismo en ausencia del antibiótico.

Unidades y Estándares de Referencia: La potencia de los antibióticos se designa en unidades (U) o en μg de actividad. En ambos casos, la unidad o μg de actividad del antibiótico se establece originalmente contra un Estándar Maestro Federal de los Estados Unidos para el antibiótico en cuestión. El Estándar de Referencia USP correspondiente se calibra en términos del estándar maestro.

En un principio se consideraba que un antibiótico seleccionado como estándar de referencia constaba en su totalidad de una sola entidad química y por lo tanto, se le asignaba una potencia de 1000 $\mu\text{g}/\text{mg}$. En muchos de estos casos, a medida que los métodos de fabricación y purificación para ciertos antibióticos avanzaron en su desarrollo, fue posible obtener antibióticos con más de 1000 μg de actividad/mg. Tales antibióticos tenían una actividad equivalente a un número determinado de μg del estándar de referencia original. No obstante, la mayoría de las veces, los μg de actividad son, numéricamente, exactamente equivalentes a los μg (peso) de la sustancia pura. En ciertas ocasiones, como las citadas a continuación, los μg de actividad definidos en términos del estándar maestro original equivalen a una unidad:

1. Cuando el antibiótico se presenta como la base libre y en forma de sal y los μg de actividad han sido definidos en términos de una de esas formas.
2. Cuando la sustancia antibiótica consta de un número de componentes que son químicamente similares pero que difieren en actividad antibiótica.
3. Cuando las potencias de una familia de antibióticos se expresan en términos de un estándar de referencia que consta de un solo miembro de la familia el cual, no obstante, puede ser por sí mismo heterogéneo.

No se debe asumir que los μg de actividad corresponden a los μg (peso) de la sustancia antibiótica.

Aparato: El material de laboratorio usado para almacenar y transferir microorganismos y diluciones de prueba debe ser estéril y estar exento de residuos que pudieran interferir en la valoración (ver *Limpieza de Material de Vidrio 1051*). Usar un método de esterilización validado tal como calor seco, vapor o irradiación, o usar material de laboratorio estéril y desechable.

Control de temperatura: Se requiere control termostático en varias etapas de una valoración microbiológica: durante el cultivo de un microorganismo y la preparación de su inóculo, así como durante la incubación en las valoraciones en placa y tubo. Referirse a los requisitos específicos de temperatura provistos más adelante para cada tipo de valoración.

Organismos de prueba: El organismo de prueba para cada antibiótico se lista en la *Tabla 3* para la valoración en cilindro-placa y en la *Tabla 8* para la valoración turbidimétrica. Los organismos de prueba se especifican mediante su número de identificación en la American Type Culture Collection (Colección de Cultivos Tipo de los EE.UU. o ATCC).

Para asegurar el desempeño aceptable de los organismos de prueba, estos deben ser almacenados y conservados de manera apropiada. Se deben establecer las condiciones de almacenamiento específicas durante la validación o verificación del método. Desechar los cultivos si se observa un cambio en las características del organismo.

Almacenamiento prolongado: Para el almacenamiento prolongado, mantener los organismos de prueba en una solución de almacenamiento adecuada, tal como suero fetal de ternero al 50% en caldo glicerol al 10-15% en caldo tripticasa de soja (caldo digerido de caseína y soja), sangre de oveja desfibrinada o leche descremada. Los cultivos que se van a almacenar durante periodos prolongados se almacenan mejor en estado liofilizado; se prefieren temperaturas de -60° o inferiores; son aceptables temperaturas inferiores a -20°.

Cultivos primarios: Preparar los cultivos primarios transfiriendo organismos de prueba desde los viales de almacenamiento prolongado a medios apropiados e incubando en condiciones de crecimiento adecuadas. Almacenar los cultivos primarios a la temperatura apropiada, por lo general a 2°-8°, y desechar después de tres semanas. Se puede usar el mismo cultivo primario para preparar los cultivos de trabajo por un máximo de siete días únicamente.

Cultivos de trabajo: Preparar los cultivos de trabajo transfiriendo el cultivo primario a medios sólidos apropiados para obtener colonias aisladas. Incubar los cultivos de trabajo en condiciones apropiadas para obtener un crecimiento

satisfactorio para preparación de los inóculos de prueba. Preparar cultivos de trabajo nuevos para cada día de análisis.

Crecimiento o desempeño no característicos de un organismo de prueba: Usar cultivos madre, cultivos primarios o cultivos de trabajo nuevos cuando un organismo de prueba presente crecimiento o desempeño no característicos.

Diseños de valoración: Los diseños experimentales adecuados son clave para incrementar la precisión y minimizar el sesgo. Controlar los parámetros de incubación, la distribución de temperaturas y el tiempo es crítico para minimizar el sesgo; esto se puede lograr acomodando las placas y gradillas, según se indica en cada valoración.

Valoración en cilindro-placa: Las comparaciones se limitan a las relaciones entre las mediciones del diámetro de la zona dentro de las placas, sin tener en cuenta la variación entre placas. Las respuestas individuales de las placas se normalizan basándose en el tamaño relativo de la zona del estándar comparado con el tamaño medio de la zona estándar en todas las placas.

Valoración turbidimétrica: Para evitar un sesgo sistemático, colocar aleatoriamente tubos duplicados en gradillas separadas de manera que cada gradilla contenga un conjunto completo de tratamientos. El propósito de esta configuración es minimizar la influencia de la distribución de la temperatura sobre las muestras duplicadas. La valoración turbidimétrica, debido a la configuración de las muestras en las gradillas para tubos de ensayo, es sensible a ligeras variaciones de temperatura. Asimismo, la influencia de la variación de la temperatura puede disminuir al asegurar un flujo de aire o la convección de calor adecuados durante la incubación. Se deben colocar por lo menos tres tubos para cada concentración, muestra y estándar (un conjunto completo de muestras) en una sola gradilla. Las comparaciones se limitan a las relaciones entre los valores de turbidez observados dentro de las gradillas.

Consideraciones sobre potencia: Dentro de las restricciones citadas anteriormente, el diseño de valoración recomendado emplea una curva estándar de cinco concentraciones y una sola concentración de cada preparación muestra.

Para la valoración cilindro-placa, cada placa incluye únicamente dos tratamientos, el tratamiento de referencia (mediana de los niveles del estándar, es decir, S3) y una de las otras cuatro concentraciones del estándar (S1, S2, S4 y S5) o la muestra (U3). La concentración de la muestra es una estimación basada en la concentración deseada. La muestra se debe diluir para proporcionar una concentración nominal que se estima es equivalente a la mediana de la concentración de referencia del estándar (S3). El propósito de diluir a la mediana

de la concentración de referencia es asegurar que el resultado de la muestra caerá dentro de la porción lineal de la curva estándar. La prueba determina la potencia relativa de U3 en función de la curva estándar. La muestra (U3) debe tener una potencia relativa de aproximadamente 100%. La potencia final de la muestra se obtiene multiplicando el resultado de U3 por el factor de dilución.

Una valoración debe considerarse preliminar si el valor de la potencia de la muestra calculado es inferior al 80% o superior al 125%. En dicho caso, los resultados sugieren que la concentración de la muestra supuesta durante la preparación de la solución madre de la muestra era incorrecta. Si esa fuera la situación, se puede ajustar la potencia supuesta de la muestra basándose en el valor de potencia preliminar y repetir la valoración. De otro modo, la potencia se derivará de una porción de la curva donde las respuestas del estándar y la muestra probablemente no serán paralelas.

Las determinaciones microbiológicas de potencia están sujetas a variables intervaloración e intravaloración, de modo tal que se requieren dos o más valoraciones independientes para obtener una estimación confiable de la potencia de una muestra determinada. Partiendo de soluciones madres y diluciones de prueba tanto del estándar como de la muestra, preparadas por separado, llevar a cabo otro día valoraciones adicionales de una muestra determinada. La potencia media debe incluir los resultados de todas las valoraciones independientes válidas. El número de valoraciones requerido para lograr una estimación de potencia confiable depende de la variabilidad de la valoración y de la incertidumbre máxima requerida para la estimación de potencia. Ésta última se evalúa mediante la amplitud del intervalo de confianza (ver *Cálculos, Límites de confianza y combinaciones de cálculos de valoración*). El resultado combinado de una serie de valoraciones independientes más pequeñas a lo largo de varios días es una estimación de potencia más confiable que la obtenida de una sola valoración grande con el mismo número total de placas o tubos. Se debe tomar en cuenta que las valoraciones adicionales o una menor variabilidad permiten que el producto cumpla con intervalos de especificación más estrechos. Al reducir la variabilidad de las valoraciones se logra el límite de confianza requerido con menos valoraciones.

MÉTODO TURBIDIMÉTRICO

Control de temperatura: Usar un equipo calificado y calibrado de manera apropiada para obtener los rangos de temperatura especificados en la *Tabla 8*. [NOTA-El control de la temperatura se puede lograr con circulación de aire o agua. La mayor capacidad térmica del agua representa cierta ventaja sobre el aire circulante.]

Espectrofotómetro: La medición de la absorbancia o transmitancia dentro de una banda de frecuencia muy estrecha requiere de un espectrofotómetro adecuado en el que se pueda variar o restringir la longitud de onda usando filtros de 580 nm o 530 nm. Como alternativa, se puede usar un espectrofotómetro con longitud de onda variable y ajustar a una longitud de onda de 580 nm o 530 nm.

El instrumento se puede modificar de la siguiente manera:

1. Para que acepte el tubo en el que se lleva a cabo la incubación (ver *Aparato* a continuación),
2. Para que acepte una celda modificada equipada con un drenaje que facilite el cambio rápido del contenido.
3. Para que contenga una celda de flujo para un análisis de flujo continuo.

Ajustar automáticamente el instrumento a cero con un caldo no inoculado transparente, preparado según las especificaciones de cada antibiótico, incluyendo la misma cantidad de dilución de prueba (incluyendo formaldehído si se especifica) que se encuentra en cada muestra.

Durante la preparación de los inóculos se puede medir tanto la absorbancia como la transmitancia.

Aparato: Tubos de ensayo de vidrio o plástico, p.ej., de 16 x 125 mm o de 18 x 150 mm. [NOTA-Usar tubos que tengan una longitud, diámetro y espesor relativamente uniformes y que estén exentos de defectos y rayaduras en la superficie. En el espectrofotómetro, usar tubos idénticos exentos de defectos y rayaduras. Limpiar los tubos minuciosamente para eliminar todos los residuos de antibiótico y restos de soluciones de limpieza. Esterilizar los tubos antes de usar.]

Soluciones estándar: Para preparar una solución madre, disolver una cantidad del Estándar de Referencia USP de un antibiótico determinado o todo el contenido de un vial de Estándar de Referencia USP, cuando corresponda, en el disolvente especificado en la *Tabla 7* y diluir hasta la concentración requerida. Almacenar a 2°-8° y usar dentro del periodo indicado. En el día de la valoración, preparar a partir de la solución madre cinco o más diluciones de prueba, con un aumento de concentración entre diluciones sucesivas, por lo general, en una proporción de 1:1,25. [NOTA-Puede ser necesario usar relaciones más pequeñas para diluciones sucesivas de la solución madre para la valoración turbidimétrica.] Usar el diluyente final especificado de manera tal que la mediana de los niveles del estándar (S3) tenga la concentración sugerida en la *Tabla 7*.

Soluciones muestra: Asignar una potencia supuesta por unidad de peso o volumen a la muestra desconocida y, en el día de la valoración, preparar una

solución madre de la misma manera que se especifica para el Estándar de Referencia USP (Tabla 7). Diluir la solución madre de la muestra en el diluyente final especificado a una concentración nominal igual a la mediana de la concentración estándar (S3) según se especifica en la Tabla 7.

Tabla 7

Antibiótico	Solución Madre					Dilución de Prueba	
	Disolvente Inicial	Concentración Inicial	Diluyente adicional	Concentración Madre Final	Usar dentro de	Diluyente Final	Mediana de la Concentración (S ₃) ^a
Capreomicina	Agua	-	-	1 mg/mL	7 días	Agua	100 ug/mL
Cloranfenicol	Alcohol	10 mg/mL	Agua	1 mg/mL	30 días	Agua	2,5 ug/mL
Clortetraciclina	Ácido clorhídrico 0,01 N	-	-	1 mg/mL	4 días	Agua	0,06 ug/mL
Dihidroestreptomicina ^b	Agua	-	-	1 mg/mL	30 días	Agua	30 ug/mL
Gramicidina	Alcohol	-	-	1 mg/mL	30 días	Alcohol	0,04 ug/mL
Neomicina ^{b,d}	B.3 ^c	-	-	100 mg/mL	14 días		1,0 ug/mL
Oxitetraciclina	Ácido clorhídrico 0,1 N	-	-	1 mg/mL	4 días	Agua	0,24 ug/mL
Tetraciclina	Ácido clorhídrico 0,1 N	-	-	1 mg/mL	1 día	Agua	0,24 ug/mL
Tioestreptona	Dimetil sulfóxido	-	-	1 U/mL	El mismo día	Dimetil sulfóxido	0,80 ug/mL
Toleandomicina	Alcohol isopropílico y agua (4:1)	-	-	1 mg/mL	El mismo día	Agua	25 ug/mL
Tilosina	Metanol	10 mg/mL	B.16 ^c	1 mg/mL	30 días	Metanol y B.3 ^c (1:1)	4 ug/mL

^a ug en esta columna se refiere a ug de actividad.

^b Se puede usar la valoración cilindro-placa como un procedimiento alternativo.

^c La letra B se refiere a la solución amortiguadora. Ver *Medios y Soluciones amortiguadoras* para una descripción de cada solución amortiguadora listada en esta tabla.

^d Diluir la solución madre de 100 ug/mL con *Solución amortiguadora B.3* para obtener una solución con una concentración equivalente a 25 ug/mL de neomicina. Agregar 1,39; 1,67; 2,00; 2,40 y 2,88 mL de esta solución a sendos matraces volumétricos de 50 mL de ácido clorhídrico 0,01 N a cada matraz, diluir con *Solución amortiguadora B.3* a volumen y mezclar para obtener soluciones con concentraciones de 0,69; 0,83; 1,0; 1,2 y 1,44 ug/mL de neomicina. Usar estas soluciones para preparar la línea de respuesta estándar.

Inóculos: Suspender el organismo de prueba obtenido de un cultivo o cultivo inclinado (slant) recientes en 3 mL de solución salina SR estéril. Se pueden usar perlas de vidrio para facilitar la suspensión. *Enterococcus hirae* (ATCC 10541) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 9144) se cultivan en un medio líquido, no en agar. Esparcir la suspensión salina sobre la superficie de dos o más placas de agar

(cubriendo toda la superficie) o sobre la superficie de un frasco Roux que contenga 250 mL del medio especificado (ver la *Tabla 8*). Incubar durante el tiempo y a la temperatura especificados en la *Tabla 8*, o hasta que el crecimiento sea evidente.

Después de incubar, recolectar el organismo de las placas o frasco Roux con aproximadamente 50 mL de solución salina SR estéril, usando una varilla de vidrio doblada en ángulo estéril o perlas de virio estériles o perlas de virio estériles. Pipetear y transferir la suspensión a un frasco de vidrio estéril. Ésta es la suspensión de recolección.

Determinar durante la verificación del método la cantidad de suspensión de recolección que se usará como el inóculo, comenzando con el volumen sugerido en la *Tabla 8*. Preparar también una S3 extra como una prueba de crecimiento. Incubar las pruebas de ensayo durante los tiempos indicados en la *Tabla 11*. Ajustar la cantidad de inóculo a diario, si fuera necesario, para obtener la relación de concentración-respuesta óptima a partir del organismo de prueba en los tubos de valoración. Una vez completados los periodos de incubación especificados, los tubos que contienen la mediana de la concentración del estándar deben presentar los valores de absorbancia especificados en la *Tabla 9*. Determinar la duración exacta de la incubación, observando el crecimiento en la concentración de referencia (mediana de la concentración) del estándar (S3).

Tabla 8

Antibiótico	Organismo de prueba	Número ATCC ^a	Condiciones de Incubación			Composición sugerida del Inóculo	
			Medio ^b	Temperatura (°)	Tiempo	Medio ^b	Cantidad (mL/100 mL)
Capreomicina	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031	1	36-37,5	16-24 h	3	0,05
Cloranfenicol	<i>Escherichia coli</i>	10536	1	32-35	24 h	3	0,7
Clortetraciclina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737	1	32-35	24 h	3	0,1
Dihidro-estreptomina ^b	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031	1	36-37,5	16-24 h	3	0,1
Gramicidina	<i>Enterococcus hirae</i>	10541	3	36-37,5	16-18 h	3	1,0
Neomicina ^{b,d}	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031	1	36-37,5	16-24 h	39	2
Oxitetraciclina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737	1	32-35	24 h	3	0,1
	<i>Staphylococcus aureus</i>						
Tetraciclina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737	1	32-35	24 h	3	0,1
Tioestreptona	<i>Enterococcus hirae</i>	10541	40	36-37,5	18-24 h	41	0,2
Toleandomicina	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031	1	36-37,5	16-24 h	3	0,1
Tilosina	<i>Staphylococcus aureus</i>	9144	3	35-39	16-18 h	39	2-3

^a American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas VA 20110-2209 (<http://www.atcc.org>).

^b Ver *Medios y Soluciones, Medios*.

Tabla 9

Antibiótico	Absorbancia, No menos de (u.a.)
Capreomicina	0,4
Clortetraciclina	0,35
Gramicidina	0,35
Tetraciclina	0,35
Todos los demás	0,3

Análisis: En el día de la valoración, preparar la concentración necesaria de antibiótico, diluyendo soluciones madre del estándar y de cada una de las muestras, según se especifica en *Soluciones estándar* y *Soluciones muestra*. Preparar cinco niveles de prueba, cada uno por triplicado, del estándar (S1-S5) y un solo nivel de prueba (U3), también por triplicado, de hasta 20 muestras correspondientes a S3 (mediana de la concentración) del estándar.

Tabla 10

Antibiótico	Volumen de Dilución de Prueba (mL)	Volumen de Inóculo (mL)
Gramicidina	0,10	9,0
Tioestreptona	0,10	10,0
Tilosina	0,10	9,0
Todos los demás	1,0	9,0

Colocar los tubos en gradillas para tubos de ensayo u otro portador. Incluir en cada gradilla 1-2 tubos de control que contengan 1 mL del medio de inóculo (ver la *Tabla 8*) pero sin antibiótico. Agregar los volúmenes de las diluciones de prueba del estándar y de la muestra, según se indica en la *Tabla 10*. Distribuir aleatoriamente un set completo, incluyendo los controles, en una gradilla para tubos. Agregar el volumen de inóculo especificado en la *Tabla 10* a cada tubo en la gradilla, uno por vez, y colocar la gradilla completada inmediatamente en una incubadora o un baño de agua mantenidos a la temperatura especificada en la *Tabla 8* y durante el tiempo especificado en la *Tabla 11*.

Tabla 11

Antibiótico	Tiempo de Incubación (h)
Capreomicina	3-4
Cloranfenicol	3-4
Cicloserina	3-4
Dihidroestreptomina	3-4
Estreptomina	3-4
Troleandomicina	3-4
Tilosina	3-5
Todos los demás	4-5

Después de la incubación, inhibir inmediatamente el crecimiento del organismo, agregando 0.5 mL de formaldehído diluido a cada tubo, excepto para tilosina. Para tilosina, calentar la gradilla en un baño de agua a 80°-90° durante 2-6 minutos o en un baño de vapor durante 5-10 minutos y llevar a temperatura ambiente. Leer la absorbancia o la transmitancia a 530 ó 580 nm, analizando una gradilla cada vez.

FUENTE: USP35-NF30 (2012).

ANEXO N° 2:**LABORATORIOS PRODUCTORES DE CLORANFENICOL CÁPSULA 500 mg Y
SUSPENSIÓN ORAL 250 mg/5mL A NIVEL NACIONAL**

LABORATORIO PRODUCTOR	NOMBRE DEL PRODUCTO	FORMA FARMACEUTICA	CONCENTRACIÓN
PORTUGAL	CLORANFENICOL	Suspensión Oral	250 mg/5mL
	CLORANFENICOL	Cápsula	500 mg
INFARMASA SANITAS	CLOROMISAN	Suspensión Oral	250 mg/5mL
	CLOROMISAN	Cápsula	500 mg
QUILAB	CLORANFENICOL	Cápsula	500 mg
	CLORANFENICOL	Suspensión Oral	250 mg/5mL
MARFAN/ CORP. MEDCO	CLORANFENICOL	Cápsula	500 mg
MEDROCK	CLORANFENICOL	Cápsula	500 mg
IFARPE	QUEMICETINA	Cápsula	500 mg
G & R	CLORANFENICOL	Cápsula	500 mg
FARMO ANDINA	CLORANFENICOL	Cápsula	500 mg
PFIZER	CHLOROMYCETIN	Cápsula	500 mg

FUENTE: Observatorio de Productos Farmacéuticos – MINSA, 2012.

ANEXO N°3:**LABORATORIOS PRODUCTORES DE CLORANFENICOL CÁPSULAS 500 mg
Y SUSPENSIÓN ORAL 250 mg/5mL EXPENDIDOS EN LA CIUDAD DE CUSCO**

LABORATORIO PRODUCTOR	NOMBRE DEL PRODUCTO	FORMA FARMACEUTICA	CONCENTRACIÓN
PORTUGAL	CLORANFENICOL	Suspensión Oral	250 mg/5mL
	CLORANFENICOL	Cápsula	500 mg
INFARMASA SANITAS	CLOROMISAN	Suspensión Oral	250 mg/5mL
	CLOROMISAN	Cápsula	500 mg
MARFAN/ CORP. MEDCO	CLORANFENICOL	Cápsula	500 mg
MEDROCK	CLORANFENICOL	Cápsula	500 mg
IFARPE	QUEMICETINA	Cápsula	500 mg

FUENTE: Adaptado del observatorio de Productos Farmacéuticos – MINSA, 2012.

ANEXO N° 4:
CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS

LEY 29459: DE LOS PRODUCTOS FARMACÉUTICOS, DISPOSITIVOS MÉDICOS Y PRODUCTOS SANITARIOS

PRINCIPIOS BÁSICOS:

Los procesos y actividades relacionados con los productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios de uso en seres humanos, en cuanto sea aplicable a cada caso, se sustentan en lo siguiente:

1. Principio de seguridad: Garantía de que el producto a utilizar, en las condiciones normales de uso y duración de tratamiento, pueda ser utilizado con los efectos previstos, sustentados en estudios preclínicos y clínicos, sin presentar riesgo para la salud.
2. Principio de eficacia: Beneficio en el tratamiento, prevención y diagnóstico de las personas, expresado en el valor terapéutico y necesidad del producto para preservar o mejorar la salud, que se encuentra sustentado en estudios preclínicos y ensayos clínicos que se ajustan a exigencias normativas y avances en el conocimiento.
3. Principio de calidad: Todo producto debe ser elaborado con rigurosas exigencias de calidad, desde los ingredientes activos y excipientes, de una composición cualitativa y cuantitativa establecida, hasta envases adecuados y una correcta Información, cumpliendo todos los requisitos para el aseguramiento de la calidad.
4. Principio de racionalidad: Responsabilidad ética y de justicia en seleccionar los productos apropiados, con criterios de efectividad, seguridad, necesidad y costo. Los esfuerzos deben centrarse en el correcto uso del medicamento apropiado en el paciente a dosis, tiempo y vía de administración adecuados.
5. Principio de accesibilidad: La salud es considerada un derecho fundamental de las personas. El acceso al cuidado de la salud Incluye el acceso a productos farmacéuticos y dispositivos médicos. Constituye un requisito para lograr este derecho: tener el producto disponible y asequible en el lugar y momento en que sea requerido.
6. Principio de equidad: Es deber del Estado asegurar la accesibilidad equitativa a los productos farmacéuticos y dispositivos médicos esenciales, como bienes públicos de salud, en relación con las necesidades de las poblaciones y de las personas. Es objetivo de la salud pública reducir las inequidades sociales en la situación de salud, superando la exclusión social.

7. Principio de bien social: Proteger la salud pública es una función del Estado, que involucra a los gobiernos y a la sociedad, vinculada a la responsabilidad social de atender y transformar la salud desde la perspectiva del interés colectivo de la población. Los medicamentos y otros productos regulados en la presente Ley son indispensables para el cuidado de la salud de la población y constituyen un bien social.
8. Principio de objetividad: En la ejecución de todas las acciones y decisiones tomadas por las personas involucradas en los procesos regulados en la presente Ley, sustentadas en Información científica independiente y objetiva.
9. Principio de transparencia: Garantiza el derecho de la población a tener información sobre las acciones desarrolladas por las personas involucradas en los procesos relacionados con los productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios, siempre que no vulneren la intimidad de las personas ni el derecho de la propiedad intelectual.

Estos principios sirven de criterio interpretativo para la actuación de los funcionarios y dependencias responsables.

REGISTRO SANITARIO

El registro sanitario faculta a su titular para la fabricación, la importación, el almacenamiento, la distribución, la comercialización, la promoción, la dispensación, el expendio o el uso de dichos productos. Toda modificación debe igualmente constar en dicho registro. Se exceptúan de este requisito los productos fabricados en el país con fines exclusivos de exportación.

El registro sanitario es temporal y renovable cada cinco años.

La Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM) puede denegar, suspender, modificar o cancelar el registro sanitario de los productos que no cumplen con las especificaciones técnicas que amparan su otorgamiento u otras condiciones que establece el Reglamento.

La expedición del registro sanitario es una facultad exclusiva de la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM) y es Indelegable.

Asimismo, procede la suspensión, la modificación o la cancelación del registro sanitario cuando informaciones científicas provenientes de la Organización

Mundial de la Salud (OMS) o de autoridades reguladoras de países de alta vigilancia sanitaria o de las acciones de control y vigilancia sanitaria o de farmacovigilancia que se realicen en el país determinen que el producto es inseguro e ineficaz en su uso en los términos en que fue autorizado su registro.

Con la finalidad de realizar el control y vigilancia sanitaria de los productos, la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM) establece los mecanismos para la actualización de la vigencia del registro sanitario o certificado de registro sanitario en las condiciones que señala el Reglamento respectivo.

De la responsabilidad de la calidad de los productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios

La responsabilidad de la calidad de los productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios recae en la empresa fabricante si son elaborados en el país.

Tratándose de productos elaborados en el extranjero, la responsabilidad es del Importador titular del registro sanitario o del certificado del registro sanitario, según corresponda.

Cuando se trate de establecimientos encargados de elaborar, almacenar o distribuir productos por cuenta de terceros en el país, ya sea en su totalidad o en alguna de las etapas del proceso, la responsabilidad de la calidad del producto es asumida solidariamente por estos y por la empresa titular del registro sanitario.

Los establecimientos públicos y privados de distribución, dispensación o expendio de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios, cada uno en el ámbito de su competencia, están obligados, bajo responsabilidad, a conservar y vigilar el mantenimiento de su calidad hasta que sean recibidos por los usuarios.

PUBLICACIÓN DE ALERTAS

La Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM) asume la responsabilidad de emitir y publicar alertas sobre productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios, que como resultado de las acciones de control y vigilancia sanitaria y de farmacovigilancia nacionales e Internacionales, impliquen un riesgo sanitario o una infracción a lo dispuesto en la presente Ley y su Reglamento.

Dicha autoridad difunde las alertas a nivel nacional y promueve que lleguen oportunamente a todos y cada uno de los directamente Involucrados.

DEL CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA

La Autoridad Nacional de Salud (ANS), a propuesta de la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM), es la encargada de normar el control y vigilancia sanitaria de dichos productos, así como de los establecimientos que fabrican, importan, exportan, almacenan, comercializan, distribuyen, dispensan, expenden o usan dichos productos.

El control y la vigilancia sanitaria de lo establecido en la presente Ley es responsabilidad de los órganos desconcentrados de la Autoridad Nacional de Salud (OD), la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM), las autoridades regionales de salud (ARS) y las autoridades de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios de nivel regional (ARM), según corresponda, los cuales pueden convocar a las municipalidades y otras entidades públicas y privadas.

LAS ACCIONES DE CONTROL

El control de calidad del primer lote que ingrese al mercado, después de una inscripción o reinscripción se realiza en el Centro Nacional de Control de Calidad o laboratorio acreditado de la Red.

Para los otros lotes, el titular del registro sanitario puede optar por contar con un laboratorio de control de calidad propio o contratado, público o privado, debiendo en cualquiera de los casos, este laboratorio estar acreditado por la Autoridad Nacional de Salud (ANS) en Buenas Prácticas de Laboratorio.

Adicionalmente, los órganos desconcentrados de la Autoridad Nacional de Salud (OD), la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM), las autoridades regionales de salud (ARS) y las autoridades de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios de nivel regional (ARM) pueden efectuar el control y vigilancia sanitaria mediante Inspecciones en los establecimientos que los fabrican, importan, almacenan, distribuyen, comercializan, dispensan y expenden y, a través de la ejecución de análisis de muestras de productos pesquisados, en cualquiera de las etapas de fabricación, almacenamiento, distribución y expendio, así como de los

insumos, materia prima y materiales de envase y acondicionamiento empleados en los procesos de producción. Estos controles se realizan en el Centro Nacional de Control de Calidad y laboratorios acreditados de la red nacional de laboratorios oficiales de control de calidad.

Cuando alguna de las pruebas no pueda ser realizada por estos laboratorios, el control de calidad puede ser realizado en laboratorios de control de calidad extranjeros acreditados por su autoridad competente, a excepción de aquellos casos que sean señalados en el Reglamento.

Asimismo, la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM) y las autoridades de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios de nivel regional (ARM) pueden realizar en los productos importados verificaciones o pesquisas en la zona primaria aduanera, durante el reconocimiento físico o después del levante autorizado y en los almacenes aduaneros, previa autorización de la autoridad aduanera en la forma y condiciones que lo establezca. Los almacenes aduaneros para productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios deben estar acondicionados con Buenas Prácticas de Almacenamiento, lo cual es verificado por la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM).

La Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM) y las autoridades de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios de nivel regional (ARM) verifican el cumplimiento de lo dispuesto en la Ley y demás normas sanitarias vigentes, y aplican las sanciones y medidas de seguridad que correspondan, señaladas en el Reglamento.

FUENTE: LEY 29459 (DIGEMID-MINSA).

ANEXO N°5:

ALERTAS DIGEMID CLORANFENICOL

ALERTA DIGEMID N°28-2004: lotes de productos farmacéuticos observados por resultados críticos de control de calidad. Cloranfenicol 500 mg cápsulas Ensayo de Disolución no Conforme (DIGEMID-MINSA, 2004).

ALERTA DIGEMID N°26-2007: falsificación del producto farmacéutico Quemicetina 500 mg capsula. El producto analizado no contiene Cloranfenicol. No se ajusta a las especificaciones técnicas autorizadas en cuanto al envase mediateo y envase inmediato (DIGEMID-MINSA, 2007).

ALERTA DIGEMID N°66-2007: falsificación del producto farmacéutico Cloromisan 500 mg cápsula. No se ajusta a las especificaciones técnicas autorizadas en el Registro Sanitario (DIGEMID-MINSA, 2007).

ALERTA DIGEMID N°11-2009: falsificación de productos farmacéuticos. Chloromycetin 500mg cápsula. No se ajusta a las especificaciones técnicas autorizadas en el Registro Sanitario (DIGEMID-MINSA, 2009).

ALERTA DIGEMID N°26-2010: falsificación de productos farmacéuticos. Quemicetina 250 mg capsula. No se ajusta a las especificaciones técnicas autorizadas en el Registro Sanitario (DIGEMID-MINSA, 2010).

FUENTE: DIGEMID-MINSA.

ANEXO N° 6:

CONSTANCIA DE LABORATORIOS NATURGEN S.A.C.



CONSTANCIA

Por medio de la presente, hago constar que las Srtas.: Eivia Shirley Coanqui Huaman y Nieves Alejandra Cama Tito, Bachilleres de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; realizaron la parte experimental de su Proyecto de Investigación intitulado: "DETERMINACIÓN Y COMPARACIÓN DE LA POTENCIA ANTIBIÓTICA, FRENTE A UN ESTÁNDAR SECUNDARIO, DE CLORANFENICOL (CÁPSULAS 500mg Y POLVO PARA SUSPENSIÓN 250mg/5mL) DE MUESTRAS ELEGIDAS AL AZAR ENTRE COMERCIALES Y GENÉRICOS, EXPENDIDOS EN BOTICAS Y FARMACIAS DE LA CIUDAD DE CUSCO - 2012" en el Área de Microbiología (Área de Control de Calidad) de Laboratorios Naturgen S.A.C.

Se extiende la siguiente a solicitud de las interesadas para los fines que vean por convenientes.

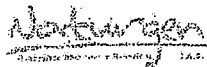
Arequipa, 22 de Marzo del 2013.

Atentamente,




Naturgen
LABORATORIOS NATURALES Y GENERICOS S.A.C.
Gladis Elena Sosa Yananta
Gladis Elena Sosa Yananta
CÓDIGO PROFESIONAL 09271
Jefe de Control de Calidad

ANEXO N° 7:

CERTIFICADO DEL ESTÁNDAR SECUNDARIO DE CLORANFENICOL



	CONTROL DE MATERIAS PRIMAS Y MATERIAL DE EMPAQUE FICMIP-ME-011	Página: 4 de 4 Revisión: 03 Edición: 183 Vigente desde: 2012-09-19 Vigente hasta: 2014-09-19
---	--	--

CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE ESTÁNDARES SECUNDARIOS

Elaborado por: Omelia Ghez Cargo: Analista Clor-MF Fecha: 2012-09-30 Firma: 	Analizado por: Estela Talavera Cargo: Jefe de QC Fecha: 2012-09-30 Firma: 	Aprobado por: Lilian Salazar Cargo: DT Fecha: 2012-09-30 Firma: 
--	--	--

NOMBRE: <i>Cloranfenicol</i> N° ANALISIS: <i>12022418</i> N° LOTE: <i>CH11493</i>	FECHA DE EXPIRACION: <i>2015-01-01</i> FECHA DE ANALISIS: <i>2012-09-19</i>
---	--

ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
DESCRIPCION	<i>Gránulos con forma de opaja, blancos a largos pedruzcos de color blanco o amarillento.</i>	<i>Conforme</i>
IDENTIFICACION	<i>IR: El espectro de IR es similar al ST-HPIC; el tiempo de retención del pic principal en el cromatograma de la preparación estándar corresponde a la preparación未知.</i>	<i>Conforme</i>
SOLUBILIDAD	<i>Facilmente soluble en agua, en propilglicol y en acetona y en acetato de etilo.</i>	<i>Conforme.</i>
AGUA/HUMEDAD/PÉRDIDA POR SECADO	-	-
pH	<i>Entre 4,5-7,5</i>	<i>5,436</i>
MECALES PESADOS	-	-
RESIDUO DE INCINERACIÓN	-	-
DISAAR	<i>99,0 - 103,0%</i>	<i>98,45%</i>
OTROS	<i>Intensidad de fusión</i> - Entre 149° - 153° <i>Rotación específica</i> - Entre +17,0° - +20,0° <i>Estabilidad:</i> - Cumple con los requisitos <i>teriva cromatográfica</i>	<i>149,5 - 151,5°</i> <i>+19,32°</i> <i>Cumple con los requisitos</i> <i>Conforme</i>
CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	<i>Conservar en envases impenetrables.</i>	
NORMA TÉCNICA:	<i>USP Vigente</i>	
PATRON DE REFERENCIA:	<i>Cloranfenicol USP lote 004001</i>	

Vº RESPONSABLE DE MATERIA PRIMA  / L. Arenas	Vº JEFE DE CONTROL DE CALIDAD 
--	---

**ANEXO N° 9:
CERTIFICADO DEL MEDIO ANTIBIÓTICO N° 1**



Certificate of Analysis

1.05272.0500 Antibiotic agar no. 1 for microbiology
Batch VM371772

	Batch Values
Appearance	
clearness	clear
colour	yellowish-brown
pH-value (25 °C)	6.5
Solidification behaviour (2 hrs., 40 °C)	liquid, inhomogeneous

	Batch Values
Growth (Kocuria rhizophila ATCC 9341)	good
Inhibition zone diameter/Cephalotin 30 µg (Kocuria rhizophila ATCC 9341)	30 mm
Inhibition zone diameter/Chloramphenicol 30 µg (Kocuria rhizophila ATCC 9341)	34 mm
Inhibition zone diameter/Penicillin G 0.01 (Kocuria rhizophila ATCC 9341)	9 mm
Inhibition zone diameter/Penicillin G 10 UAE (Kocuria rhizophila ATCC 9341)	35 mm
Growth (Staphylococcus aureus ATCC 6538-P (WDCM 00033))	good
Inhibition zone diameter/Cephalotin 30 µg (Staphylococcus aureus ATCC 6538-P (WDCM 00033))	33 mm
Inhibition zone diameter/Chloramphenicol 30 µg (Staphylococcus aureus ATCC 6538-P (WDCM 00033))	45 mm
Inhibition zone diameter/Penicillin G 0.01 (Staphylococcus aureus ATCC 6538-P (WDCM 00033))	23 mm
Inhibition zone diameter/Penicillin G 10 U/1h (Staphylococcus aureus ATCC 6538-P (WDCM 00033))	32 mm
Growth	
Bacillus subtilis ATCC 6633 (WDCM 00003)	very good
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228 (WDCM 00036)	good
Bacillus cereus ATCC 11778 (WDCM 00001)	very good

Incubation: 24 hrs.; 35°C; aerobic

Date of release (DD.MM.YYYY): 23.02.2012
Expiry date (DD.MM.YYYY): 18.01.2017

Dr. Christian Arick

responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature

**ANEXO N° 10:
CERTIFICADO DEL MEDIO ANTIBIÓTICO N° 3**

LABORATORIOS CONDA, S.A.
PRONADISA ®

C/ La Forja, 9
28850 Torrejon de Ardoz (Madrid)

QUALITY CONTROL CERTIFICATE

MEDIUM: ANTIBIOTIC MEDIUM N° 3	CAT N° : 1534
LOT-EXP: 009242/ 09-2014	QC Date: 24-09-2010

We hereby certify that the above mentioned culture medium has been approved by the Quality Control Laboratory.

FORMULA IN g/l:

Gelatin peptone.....	5.0	Dipotassium phosphate	3.68
Sodium chloride	3.5	Beef extract:	1.5
Yeast extract:.....	1.5	Monopotassium phosphate:.....	1.32
Dextrose:	1.0		

PHYSICAL AND CHEMICAL TEST

Appearance: fine powder Solubility:.....w/o rests
Color: beige pH: 7.0

Color of the prepared medium: clear amber to medium.

MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the medium from type cultures after incubation at a temperature of 35 ± 2°C and observed after 24-48 hours.

<u>Microorganisms</u>	<u>Growth</u>	<u>Inhibition zones</u>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	Good	Kanamicine, Tetraciline Erythromycin Streptomycin
<i>Microroccus luteus</i> ATCC 9341	Good	
<i>Klebsiella pneumonie</i> ATCC 10031	Good	

The pH after preparing the medium and at room temperature: 7.0 ± 0.1

Laboratory result: **Satisfactory**



Carmen Ramirez, QC Manager

ANEXO N° 11:

PROCEDIMIENTOS

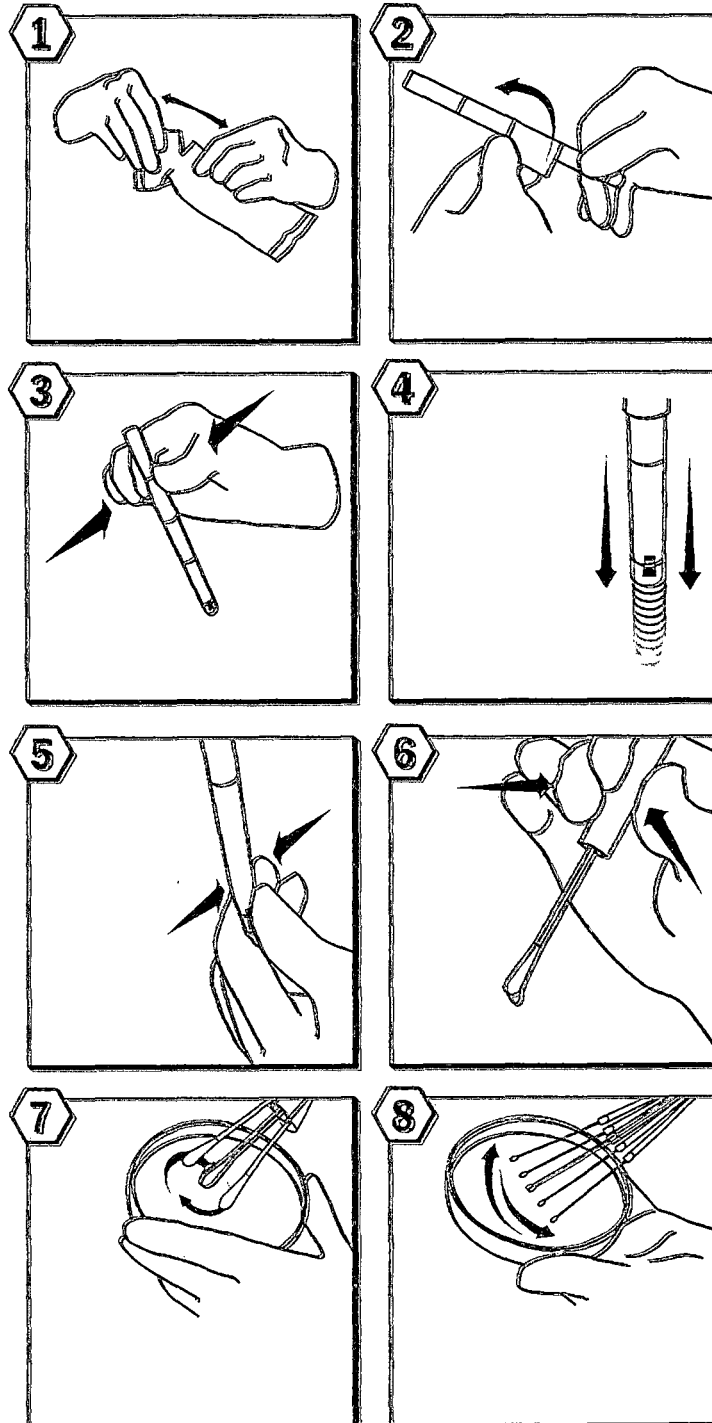
3.2.7.1 MANEJO DE LA CEPA

- Tomar las precauciones respectivas para la manipulación.
- Cada unidad plus Kwik- Stik contiene una bola liofilizada de microorganismos; un reservorio de fluido hidratante y una muestra inoculante, cada preparación de los microorganismos liofilizados es el segundo pasaje de un cultivo referencial.
- Cada unidad de plus Kwik-Stik debe conservarse de 2°C a 8°C, no se debe abrir el empaque que lo contiene hasta el momento de su uso.
- Se procederá a abrir el empaque y sacar la unidad de plus Kwik-Stik. Se puede rasgar una porción de la etiqueta del dispositivo para ser colocada en las placas para su identificación o escribir directamente en las placas.
- Soltar el fluido hidratante rompiendo la ampolla presionando en la parte alta; permitir que el fluido hidratante fluya a través del hisopo que se encuentra internamente y presionar la poción baja de la unidad que contiene el pellet.
- Sostener el dispositivo verticalmente con el tapón hacia arriba, dar un golpe en la parte baja del dispositivo para facilitar que fluya el medio.
- Permitir que el pellet y el fluido se mezclen hasta que las partículas del pellet estén uniformes y la suspensión tenga una apariencia homogénea.
- No destapar el dispositivo durante la hidratación.
- Inmediatamente realizar el hisopado en Agar Antibiótico N°1
- Incubar el medio inoculado a la temperatura de 30 a 32°C por un periodo de 24 horas.

- Seguidamente de la incubación, seleccionar una colonia representativa.

(VER FIGURA N°2).

FIGURA N°1: Manejo de la Cepa.



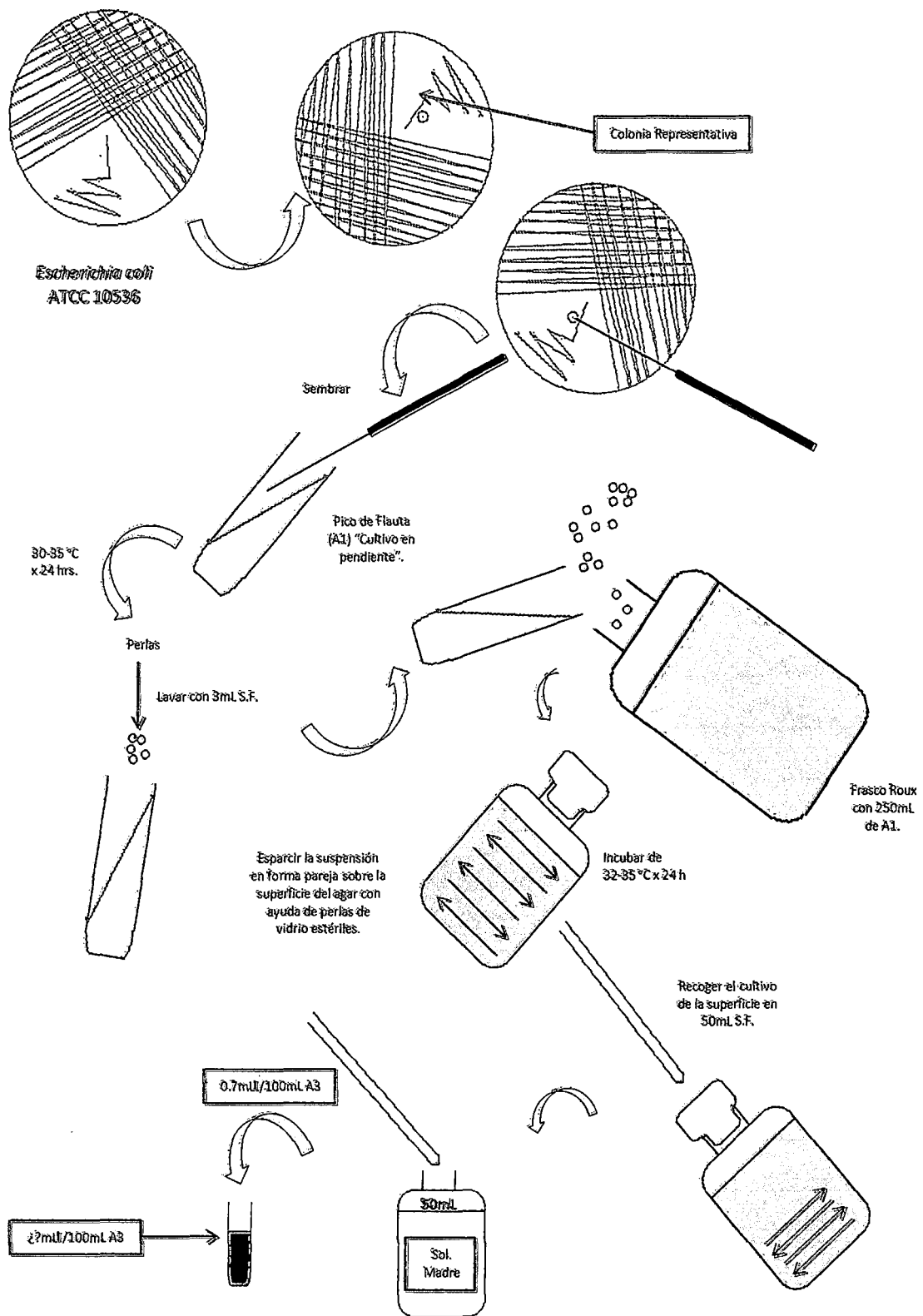
FUENTE: Adaptado de "KWIK-STIK™ Plus Instructions for Use".

3.2.7.2 PREPARACIÓN DEL INÓCULO

- En este caso trabajaremos con la cepa tipo pellets segundo pasaje de ***Escherichiacoli* ATCC 10536**.
- En un frasco Roux con agar inclinado sembrar la cepa y dispersar el inóculo con ayuda de perlas de vidrio estériles, luego incubar de 32 a 35 °C durante 24hrs.
- El día del ensayo cosechar con 50 mL de solución fisiológica estéril.
- Pipetear y transferir la suspensión a un frasco de vidrio estéril. Ésta es la suspensión de recolección.
- Determinar durante la verificación del método la cantidad de suspensión de recolección que se usará como el inóculo, comenzando con 0.7 mL/100mL de medio de cultivo (Medio Antibiótico N°3).

(VER FIGURA N °3).

FIGURA N° 2: Preparación del Inóculo.



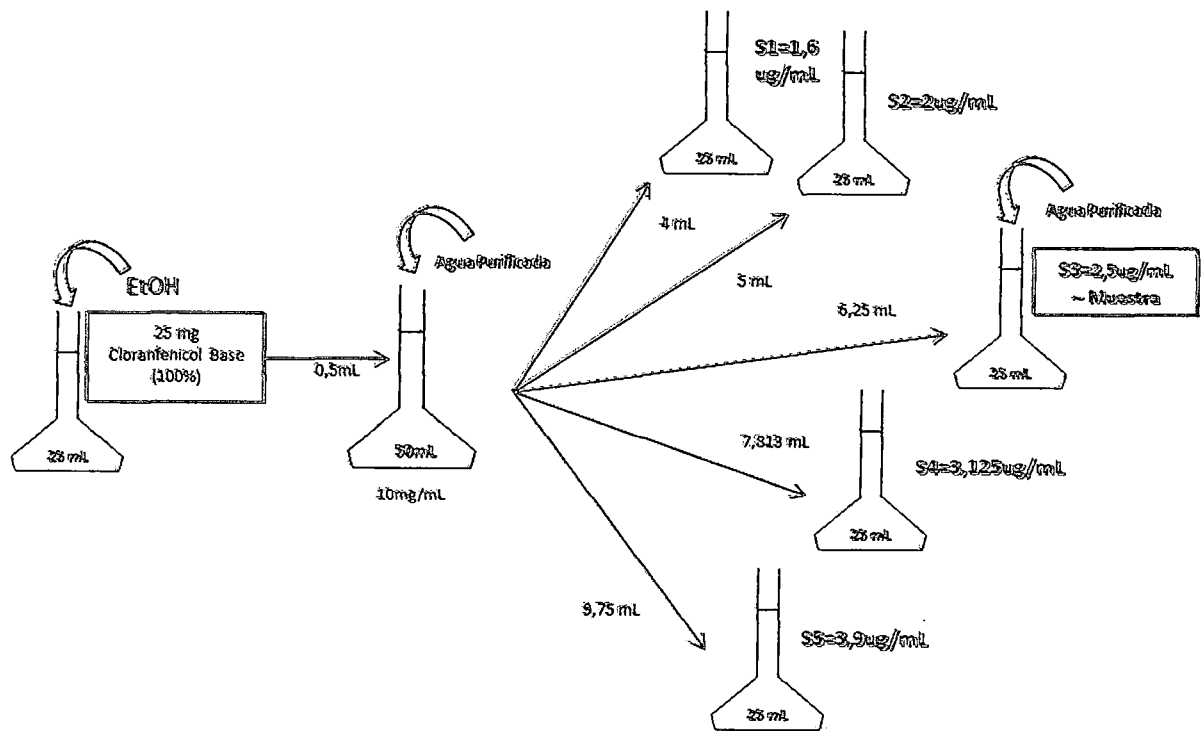
FUENTE: Elaboración propia.

3.2.7.3 PREPARACIÓN DE LOS ESTÁNDARES

- Pesar 25 mg del estándar de Cloranfenicol base y enrasar en fiola de 25 mL con etanol, de esta solución tomar una alícuota de 0,5 mL y enrasar en fiola de 50mL con etanol, de esta última solución obtendremos cinco estándares que se harán de la siguiente manera:
 - **S₁**: tomar una alícuota de 4 mL y enrasar con agua purificada en fiola de 25 mL.
 - **S₂**: tomar una alícuota de 5mL y enrasar con agua purificada en fiola de 25 mL.
 - **S₃**: tomar una alícuota de 6,25mL y enrasar con agua purificada en fiola de 25 mL.
 - **S₄**: tomar una alícuota de 7,813mL y enrasar con agua purificada en fiola de 25 mL.
 - **S₅**: tomar una alícuota de 9,75 mL y enrasar con agua purificada en fiola de 25 mL.
- ✓ Siendo el **S₃** nuestra muestra intermedia que equivale a una concentración de 2,5µg/mL.

(VER FIGURA N°4).

FIGURA N°3: Preparación de los Estándares.



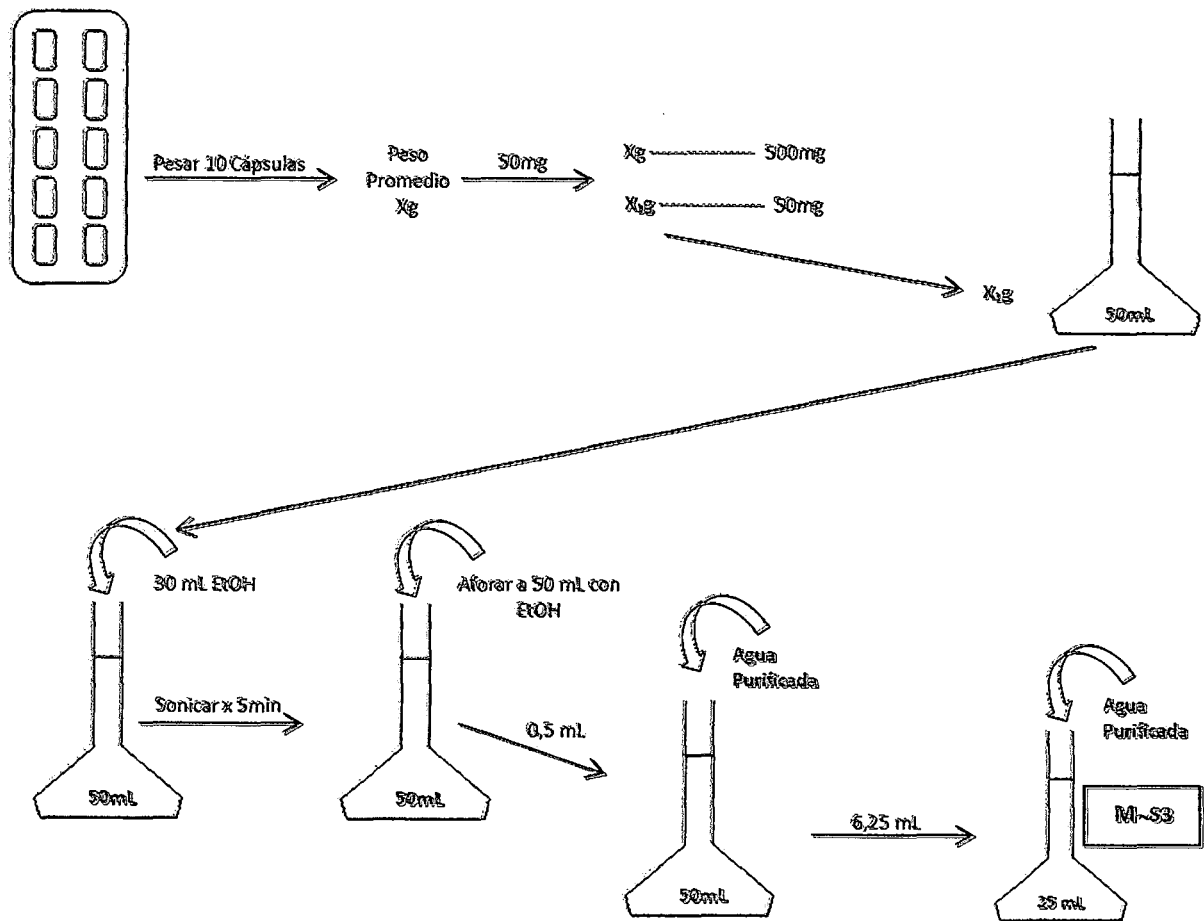
FUENTE: Elaboración propia.

3.2.7.4 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

CLORANFENICOL 500 mg (CÁPSULAS)

- Pesar 10 cápsulas, sacar el promedio y pesar el equivalente a 50 mg, enrasar en fiola de 50 mL con etanol, luego tomar una alícuota de 2,5 mL y llevarla a volumen final con agua purificada en fiola de 50 mL, finalmente tomar una alícuota de 6,25 mL y enrasar en fiola de 25 mL con agua purificada, la solución obtenida equivale a la dosis intermedia del estándar 2,5 µg/mL (VER FIGURA N°5).

FIGURA N°4: Preparación de la muestra (CÁPSULAS).

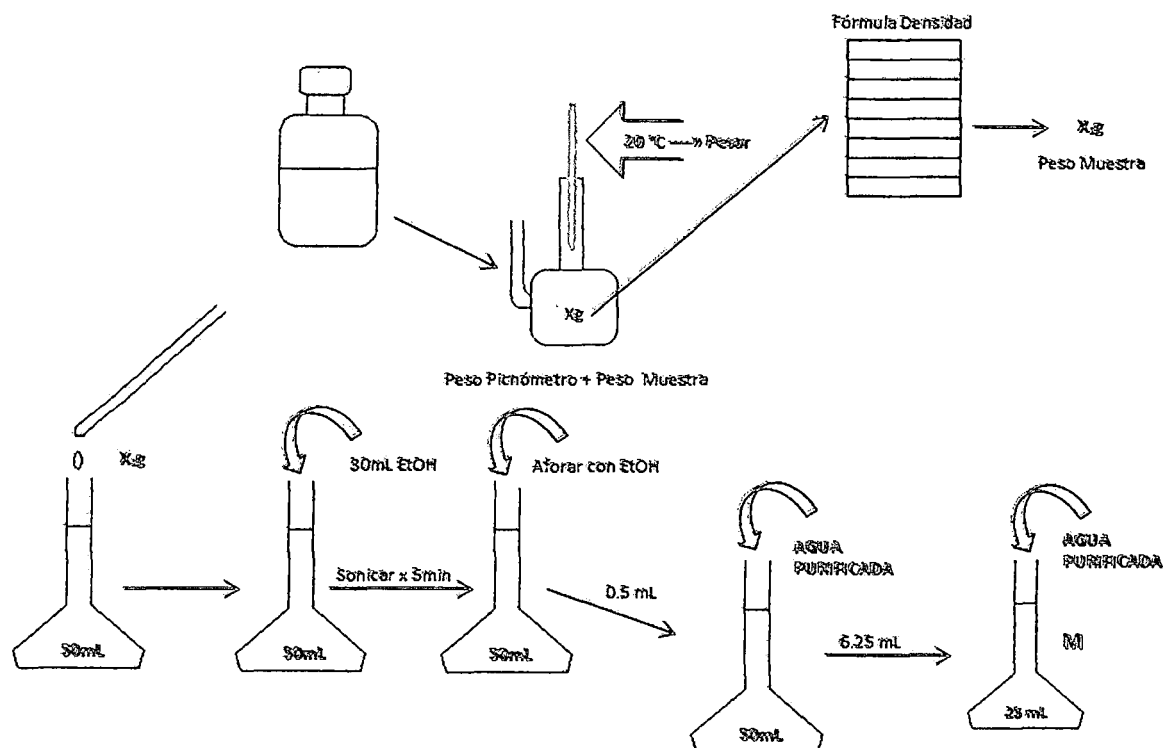


FUENTE: Elaboración propia.

CLORANFENICOL 250mg/5ml (SUSPENSIÓN ORAL)

- Primero se reconstituye el jarabe para luego hallar su densidad, tomar el equivalente a 50 mg de principio activo y llevarlo a fiola de 50 mL con agua purificada, de esta solución tomar una alícuota de 0,5 mL y enrasar en fiola de 50 mL con etanol para finalmente tomar una última alícuota de 6,25 mL en fiola de 25 mL y enrasar con agua purificada que equivale a la dosis intermedia del estándar $2,5 \mu g/mL$. (VER FIGURA N°6).

FIGURA N° 5: Preparación de la muestra (SUSPENSIÓN ORAL).



FUENTE: Elaboración propia.

3.2.7.5 ANÁLISIS

- Colocar los tubos en gradillas para tubos de ensayo. Incluir en cada gradilla 1-2 tubos de control que contengan 1 mL del medio de inóculo (Medio Antibiótico N° 3) pero sin antibiótico. Agregar 1 mL de la dilución de prueba del estándar correspondiente y de la muestra.
- Distribuir aleatoriamente un set completo, incluyendo los controles, en una gradilla para tubos. Agregar el 9 mL de inóculo a cada tubo en la gradilla, uno por vez, y colocar la gradilla completada inmediatamente en un baño de agua mantenido a 32-35° de temperatura durante 3-4 horas.
- Después de la incubación, inhibir inmediatamente el crecimiento del organismo, agregando 0.5 mL de formaldehído diluido a cada tubo.
- Leer la absorbancia a 530 nm analizando una gradilla cada vez.

FUENTE: ADAPTADO DE USP 35 NF30 (2012).

ANEXO N°12:

CÁLCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA DE LAS MUESTRAS DE CÁPSULAS 500 mg.

DÍA 1 DE ANÁLISIS

1. Determinación de la Concentración de las muestras problema

La concentración de las muestras problema se calculó mediante la interpolación de la recta estándar o patrón obtenida por transformación logarítmica y ajustada por cuadrados mínimos.

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{ABSORBANCIA} = 0.733598 - 0.272341 * \text{LOG10_CONC}$$

Despejando la **Concentración (CONC)** se tiene que:

$$0.272341 * \text{LOG10_CONC} = 0.733598 - \text{ABSORBANCIA}$$

$$\text{LOG10_CONC} = \frac{0.733598 - \text{ABSORBANCIA}}{0.272341}$$

$$\text{CONC} = 10^{\frac{0.733598 - \text{ABSORBANCIA}}{0.272341}}$$

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_1):

Absorbancia = 0.6218

$$U_{1-1} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6218}{0.272341}}$$

$$U_{1-1} = 10^{0.410576570}$$

$$U_{1-1} = 2.574 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6221

$$U_{1-2} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6221}{0.272341}}$$

$$U_{1-2} = 10^{0.409474844}$$

$$U_{1-2} = 2.567 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6195

$$U_{1-3} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6195}{0.272341}}$$

$$U_{1-3} = 10^{0.419023136}$$

$$U_{1-3} = 2.624 \text{ug/mL}$$

Para la muestra C_2 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_2):

Absorbancia = 0.6069

$$U_{2-1} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6069}{0.272341}}$$

$$U_{2-1} = 10^{0.46529563}$$

$$U_{2-1} = 2.919 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6080

$$U_{2-2} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6080}{0.272341}}$$

$$U_{2-2} = 10^{0.461255968}$$

$$U_{2-2} = 2.892 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6126

$$U_{2-3} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6126}{0.272341}}$$

$$U_{2-3} = 10^{0.444362835}$$

$$U_{2-3} = 2.782 \text{ug/mL}$$

Para la muestra C_3 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_3):

Absorbancia = 0.6309

$$U_{3-1} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6309}{0.272341}}$$

$$U_{3-1} = 10^{0.377157547}$$

$$U_{3-1} = 2.383\text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6315

$$U_{3-2} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6315}{0.272341}}$$

$$U_{3-2} = 10^{0.374954095}$$

$$U_{3-2} = 2.371\text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6312

$$U_{3-3} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6312}{0.272341}}$$

$$U_{3-3} = 10^{0.376055821}$$

$$U_{3-3} = 2.377\text{ug/mL}$$

Para la muestra C_4 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_4):

Absorbancia = 0.6060

$$U_{4-1} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6060}{0.272341}}$$

$$U_{4-1} = 10^{0.468600808}$$

$$U_{4-1} = 2.942\text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6077

$$U_{4-2} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6077}{0.272341}}$$

$$U_{4-2} = 10^{0.462357694}$$

$$U_{4-2} = 2.900\text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6052

$$U_{4-3} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6052}{0.272341}}$$

$$U_{4-3} = 10^{0.471538744}$$

$$U_{4-3} = 2.962 \text{ug/mL}$$

Finalmente, para la muestra C_5 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_5):

Absorbancia = 0.6178

$$U_{5-1} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6178}{0.272341}}$$

$$U_{5-1} = 10^{0.42526625}$$

$$U_{5-1} = 2.662 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6129

$$U_{5-2} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6129}{0.272341}}$$

$$U_{5-2} = 10^{0.443297833}$$

$$U_{5-2} = 2.775 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6166

$$U_{5-3} = 10^{\frac{0.733598 - 0.6166}{0.272341}}$$

$$U_{5-3} = 10^{0.429673155}$$

$$U_{5-3} = 2.690 \text{ug/mL}$$

2. Determinación del % de Potencia Antibiótica de las muestras problema

El % de Potencia Antibiótica de las muestras problema se determinó en función a la **mediana de la concentración** (Estándar 3: S_3), cuya concentración es conocida ($2.500 \mu\text{g/mL}$) y corresponde a un 100% de potencia.

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica %P.A.(U_1):

$$\%P.A.(U_{1-1}) = 2.574 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{1-1}) = 102.95\%$$

$$\%P.A.(U_{1-2}) = 2.567 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{1-3}) = 102.69\%$$

$$\%P.A.(U_{1-3}) = 2.624 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{1-3}) = 104.97\%$$

Para la muestra C_2 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica %P.A.(U_2):

$$\%P.A.(U_{2-1}) = 2.919 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{2-1}) = 116.78\%$$

$$\%P.A.(U_{2-2}) = 2.892 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{2-2}) = 115.70\%$$

$$\%P.A.(U_{2-3}) = 2.782 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{2-3}) = 111.28\%$$

Para la muestra C_3 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica %P.A.(U_3):

$$\%P.A.(U_{3-1}) = 2.383 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{3-1}) = 95.33\%$$

$$\%P.A.(U_{3-2}) = 2.371 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{3-2}) = 94.84\%$$

$$\%P.A.(U_{3-3}) = 2.377 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{3-3}) = 95.09\%$$

Para la muestra C_4 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica

$\%P.A.(U_4)$:

$$\%P.A.(U_{4-1}) = 2.942 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{4-1}) = 117.67\%$$

$$\%P.A.(U_{4-2}) = 2.900 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{4-2}) = 115.99\%$$

$$\%P.A.(U_{4-3}) = 2.962 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{4-3}) = 118.47\%$$

Finalmente, para la muestra C_5 se tendrán los siguientes resultados de Potencia

Antibiótica $\%P.A.(U_5)$:

$$\%P.A.(U_{5-1}) = 2.662 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{5-1}) = 106.49\%$$

$$\%P.A.(U_{5-2}) = 2.775 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{5-2}) = 111.01\%$$

$$\%P.A.(U_{5-3}) = 2.690 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{5-3}) = 107.58\%$$

DÍA 2 DE ANÁLISIS

1. Determinación de la Concentración de las muestras problema

La concentración de las muestras problema se calculó mediante la interpolación de la recta estándar o patrón obtenida por transformación logarítmica y ajustada por cuadrados mínimos.

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{ABSORBANCIA} = 0.760133 - 0.293429 * \text{LOG10_CONC}$$

Despejando la **Concentración (CONC)** se tiene que:

$$0.293429 * \text{LOG10_CONC} = 0.760133 - \text{ABSORBANCIA}$$

$$\text{LOG10_CONC} = \frac{0.760133 - \text{ABSORBANCIA}}{0.293429}$$

$$\text{CONC} = 10^{\frac{0.760133 - \text{ABSORBANCIA}}{0.293429}}$$

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_1):

Absorbancia = 0.6397

$$U_{1-1} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6397}{0.293429}}$$

$$U_{1-1} = 10^{0.410361282}$$

$$U_{1-1} = 2.573 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6390

$$U_{1-2} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6390}{0.293429}}$$

$$U_{1-2} = 10^{0.412747103}$$

$$U_{1-2} = 2.587 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6368

$$U_{1-3} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6368}{0.293429}}$$

$$U_{1-3} = 10^{0.420245399}$$

$$U_{1-3} = 2.632\text{ug/mL}$$

Para la muestra C_2 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_2):

Absorbancia = 0.6255

$$U_{2-1} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6255}{0.293429}}$$

$$U_{2-1} = 10^{0.458759373}$$

$$U_{2-1} = 2.876\text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6276

$$U_{2-2} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6276}{0.293429}}$$

$$U_{2-2} = 10^{0.451601909}$$

$$U_{2-2} = 2.829\text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6224

$$U_{2-3} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6224}{0.293429}}$$

$$U_{2-3} = 10^{0.469325153}$$

$$U_{2-3} = 2.947\text{ug/mL}$$

Para la muestra C_3 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_3):

Absorbancia = 0.6476

$$U_{3-1} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6476}{0.293429}}$$

$$U_{3-1} = 10^{0.383435583}$$

$$U_{3-1} = 2.418\text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6490

$$U_{3-2} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6490}{0.293429}}$$

$$U_{3-2} = 10^{0.37866394}$$

$$U_{3-2} = 2.391 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6501

$$U_{3-3} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6501}{0.293429}}$$

$$U_{3-3} = 10^{0.374914792}$$

$$U_{3-3} = 2.371 \text{ug/mL}$$

Para la muestra C_4 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_4):

Absorbancia = 0.6258

$$U_{4-1} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6258}{0.293429}}$$

$$U_{4-1} = 10^{0.457736878}$$

$$U_{4-1} = 2.869 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6231

$$U_{4-2} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6231}{0.293429}}$$

$$U_{4-2} = 10^{0.466939332}$$

$$U_{4-2} = 2.930 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6222

$$U_{4-3} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6222}{0.293429}}$$

$$U_{4-3} = 10^{0.470006817}$$

$$U_{4-3} = 2.951 \mu\text{g/mL}$$

Finalmente, para la muestra C_5 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_5):

Absorbancia = 0.6306

$$U_{5-1} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6306}{0.293429}}$$

$$U_{5-1} = 10^{0.44137696}$$

$$U_{5-1} = 2.763 \mu\text{g/mL}$$

Absorbancia = 0.6313

$$U_{5-2} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6313}{0.293429}}$$

$$U_{5-2} = 10^{0.438991138}$$

$$U_{5-2} = 2.748 \mu\text{g/mL}$$

Absorbancia = 0.6327

$$U_{5-3} = 10^{\frac{0.760133 - 0.6327}{0.293429}}$$

$$U_{5-3} = 10^{0.434219496}$$

$$U_{5-3} = 2.718 \mu\text{g/mL}$$

2. Determinación del % de Potencia Antibiótica de las muestras problema

El % de Potencia Antibiótica de las muestras problema se determinará en función a la mediana de la concentración (Estándar 3: S3), cuya concentración es conocida ($2.500 \mu\text{g/mL}$) y corresponde a un 100% de potencia.

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica %P.A. (U_1):

$$\%P.A. (U_{1-1}) = 2.573 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-1}) = 102.90\%$$

$$\%P.A. (U_{1-2}) = 2.587 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 103.47\%$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 2.632 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 105.27\%$$

Para la muestra C_2 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica %P.A. (U_2):

$$\%P.A. (U_{2-1}) = 2.876 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{2-1}) = 115.03\%$$

$$\%P.A. (U_{2-2}) = 2.829 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{2-2}) = 113.15\%$$

$$\%P.A. (U_{2-3}) = 2.947 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{2-3}) = 117.87\%$$

Para la muestra C_3 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica %P.A. (U_3):

$$\%P.A. (U_{3-1}) = 2.418 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{3-1}) = 96.72\%$$

$$\%P.A. (U_{3-2}) = 2.391 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{3-2}) = 95.66\%$$

$$\%P.A.(U_{3-3}) = 2.371 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{3-3}) = 94.84\%$$

Para la muestra **C₄** se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica

%P.A.(U₄):

$$\%P.A.(U_{4-1}) = 2.869 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{4-1}) = 114.76\%$$

$$\%P.A.(U_{4-2}) = 2.930 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{4-2}) = 117.22\%$$

$$\%P.A.(U_{4-3}) = 2.951 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{4-3}) = 118.05\%$$

Finalmente, para la muestra **C₅** se tendrán los siguientes resultados de Potencia

Antibiótica **%P.A.(U₅):**

$$\%P.A.(U_{5-1}) = 2.763 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{5-1}) = 110.52\%$$

$$\%P.A.(U_{5-2}) = 2.748 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{5-2}) = 109.91\%$$

$$\%P.A.(U_{5-3}) = 2.718 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{5-3}) = 108.71\%$$

DÍA 3 DE ANÁLISIS

1. Determinación de la Concentración de las muestras problema

La concentración de las muestras problema se calculó mediante la interpolación de la recta estándar o patrón obtenida por transformación logarítmica y ajustada por cuadrados mínimos.

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{ABSORBANCIA} = 0.767401 - 0.299886 \cdot \text{LOG10_CONC}$$

Despejando la **Concentración (CONC)** se tiene que:

$$0.299886 \cdot \text{LOG10_CONC} = 0.767401 - \text{ABSORBANCIA}$$

$$\text{LOG10_CONC} = \frac{0.767401 - \text{ABSORBANCIA}}{0.299886}$$

$$\text{CONC} = 10^{\frac{0.767401 - \text{ABSORBANCIA}}{0.299886}}$$

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_1):

Absorbancia = 0.6411

$$U_{1-1} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6411}{0.299886}}$$

$$U_{1-1} = 10^{0.42114038}$$

$$U_{1-1} = 2.637 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6430

$$U_{1-2} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6430}{0.299886}}$$

$$U_{1-2} = 10^{0.414804935}$$

$$U_{1-2} = 2.599 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6479

$$U_{1-3} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6479}{0.299886}}$$

$$U_{1-3} = 10^{0.398466155}$$

$$U_{1-3} = 2.503\text{ug/mL}$$

Para la muestra C_2 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_2):

Absorbancia = 0.6303

$$U_{2-1} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6303}{0.299886}}$$

$$U_{2-1} = 10^{0.457152384}$$

$$U_{2-1} = 2.865\text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6315

$$U_{2-2} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6315}{0.299886}}$$

$$U_{2-2} = 10^{0.453151050}$$

$$U_{2-2} = 2.839\text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6282

$$U_{2-3} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6282}{0.299886}}$$

$$U_{2-3} = 10^{0.464154718}$$

$$U_{2-3} = 2.912\text{ug/mL}$$

Para la muestra C_3 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_3):

Absorbancia = 0.6542

$$U_{3-1} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6542}{0.299886}}$$

$$U_{3-1} = 10^{0.377459153}$$

$$U_{3-1} = 22.385\text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6511

$$U_{3-2} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6511}{0.299886}}$$

$$U_{3-2} = 10^{0.387795932}$$

$$U_{3-2} = 2.442 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6573

$$U_{3-3} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6573}{0.299886}}$$

$$U_{3-3} = 10^{0.367122374}$$

$$U_{3-3} = 2.329 \text{ug/mL}$$

Para la muestra C_4 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_4):

Absorbancia = 0.6310

$$U_{4-1} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6310}{0.299886}}$$

$$U_{4-1} = 10^{0.454818273}$$

$$U_{4-1} = 2.850 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6305

$$U_{4-2} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6305}{0.299886}}$$

$$U_{4-2} = 10^{0.456485495}$$

$$U_{4-2} = 2.861 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6273

$$U_{4-3} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6273}{0.299886}}$$

$$U_{4-3} = 10^{0.467155719}$$

$$U_{4-3} = 2.932 \text{ug/mL}$$

Finalmente, para la muestra C_5 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_5):

Absorbancia = 0.6350

$$U_{5-1} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6350}{0.299886}}$$

$$U_{5-1} = 10^{0.441480493}$$

$$U_{5-1} = 2.764 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6393

$$U_{5-2} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6393}{0.299886}}$$

$$U_{5-2} = 10^{0.427142381}$$

$$U_{5-2} = 2.674 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6377

$$U_{5-3} = 10^{\frac{0.767401 - 0.6377}{0.299886}}$$

$$U_{5-3} = 10^{0.432477492}$$

$$U_{5-3} = 2.707 \text{ug/mL}$$

2. Determinación del % de Potencia Antibiótica de las muestras problema

El % de Potencia Antibiótica de las muestras problema se determinó en función a la mediana de la concentración (Estándar 3: S3), cuya concentración es conocida (2.500 μ g/mL) y corresponde a un 100% de potencia.

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica %P.A. (U_1):

$$\%P.A. (U_{1-1}) = 2.637 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-1}) = 105.49\%$$

$$\%P.A. (U_{1-2}) = 2.599 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 103.96\%$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 2.503 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 100.12\%$$

Para la muestra C_2 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica

$\%P.A.(U_2)$:

$$\%P.A.(U_{2-1}) = 2.865 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{2-1}) = 114.61\%$$

$$\%P.A.(U_{2-2}) = 2.839 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{2-2}) = 113.56\%$$

$$\%P.A.(U_{2-3}) = 2.912 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{2-3}) = 116.47\%$$

Para la muestra C_3 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica

$\%P.A.(U_3)$:

$$\%P.A.(U_{3-1}) = 2.385 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{3-1}) = 95.39\%$$

$$\%P.A.(U_{3-2}) = 2.442 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{3-2}) = 97.69\%$$

$$\%P.A.(U_{3-3}) = 2.329 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{3-3}) = 93.15\%$$

Para la muestra C_4 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica %P.A.(U_4):

$$\%P.A.(U_{4-1}) = 2.850 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{4-1}) = 113.99\%$$

$$\%P.A.(U_{4-2}) = 2.861 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{4-2}) = 114.43\%$$

$$\%P.A.(U_{4-3}) = 2.932 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{4-3}) = 117.28$$

Finalmente, para la muestra C_5 se tendrán los siguientes resultados de Potencia Antibiótica %P.A.(U_5):

$$\%P.A.(U_{5-1}) = 2.764 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{5-1}) = 110.55\%$$

$$\%P.A.(U_{5-2}) = 2.748 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{5-2}) = 106.96\%$$

$$\%P.A.(U_{5-3}) = 2.707 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{5-3}) = 108.28\%$$

ANEXO N° 13:

CÁLCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL % DE POTENCIA ANTIBIÓTICA DE LAS MUESTRAS DE SUSPENSIÓN ORAL 250 mg/mL.

DÍA 1 DE ANÁLISIS

1. Determinación de la Concentración de las muestras problema

La concentración de las muestras problema se calculó mediante la interpolación de la recta estándar o patrón obtenida por transformación logarítmica y ajustada por cuadrados mínimos.

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{ABSORBANCIA} = 0.732999 - 0.271238 \cdot \text{LOG10_CONC}$$

Despejando la **Concentración (CONC)** se tiene que:

$$0.271238 \cdot \text{LOG10_CONC} = 0.732999 - \text{ABSORBANCIA}$$

$$\text{LOG10_CONC} = \frac{0.732999 - \text{ABSORBANCIA}}{0.271238}$$

$$\text{CONC} = 10^{\frac{0.732999 - \text{ABSORBANCIA}}{0.271238}}$$

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_1):

Absorbancia = 0.6208

$$U_{1-1} = 10^{\frac{0.732999 - 0.6208}{0.271238}}$$

$$U_{1-1} = 10^{0.413716814}$$

$$U_{1-1} = 2.592 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6212

$$U_{1-2} = 10^{\frac{0.732999 - 0.6212}{0.271238}}$$

$$U_{1-2} = 10^{0.412241888}$$

$$U_{1-2} = 2.584 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6194

$$U_{1-3} = 10^{\frac{0.732999 - 0.6194}{0.271238}}$$

$$U_{1-3} = 10^{0.418879056}$$

$$U_{1-3} = 2.623 \text{ug/mL}$$

Para la muestra C₂ se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U₂):

Absorbancia = 0.6063

$$U_{2-1} = 10^{\frac{0.732999 - 0.6063}{0.271238}}$$

$$U_{2-1} = 10^{0.467182891}$$

$$U_{2-1} = 2.932 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6083

$$U_{2-2} = 10^{\frac{0.732999 - 0.6083}{0.271238}}$$

$$U_{2-2} = 10^{0.45980826}$$

$$U_{2-2} = 2.883 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6062

$$U_{2-3} = 10^{\frac{0.732999 - 0.6062}{0.271238}}$$

$$U_{2-3} = 10^{0.467551622}$$

$$U_{2-3} = 2.935 \text{ug/mL}$$

2. Determinación del % de Potencia Antibiótica de las muestras problema

El % de potencia antibiótica de las muestras problema se determinó en función a la mediana de la concentración (Estándar 3: S3), cuya concentración es conocida (2.500 µg/mL) y corresponde a un 100% de potencia.

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de potencia antibiótica %P.A.(U_1):

$$\%P.A.(U_{1-1}) = 2.592 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{1-1}) = 103.70\%$$

$$\%P.A.(U_{1-2}) = 2.584 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{1-3}) = 103.35\%$$

$$\%P.A.(U_{1-3}) = 2.623 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{1-3}) = 104.94\%$$

Para la muestra C_2 se tendrán los siguientes resultados de potencia antibiótica %P.A.(U_2):

$$\%P.A.(U_{2-1}) = 2.932 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{2-1}) = 117.29\%$$

$$\%P.A.(U_{2-2}) = 2.883 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{2-2}) = 115.31\%$$

$$\%P.A.(U_{2-3}) = 2.935 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A.(U_{2-3}) = 117.38\%$$

DÍA 2 DE ANÁLISIS

1. Determinación de la Concentración de las muestras problema

La concentración de las muestras problema se calculó mediante la interpolación de la recta estándar o patrón obtenida por transformación logarítmica y ajustada por cuadrados mínimos.

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{ABSORBANCIA} = 0.760186 - 0.293193 \cdot \text{LOG10_CONC}$$

Despejando la **Concentración (CONC)** se tiene que:

$$0.293193 \cdot \text{LOG10_CONC} = 0.760186 - \text{ABSORBANCIA}$$

$$\text{LOG10_CONC} = \frac{0.760186 - \text{ABSORBANCIA}}{0.293193}$$

$$\text{CONC} = 10^{\frac{0.760186 - \text{ABSORBANCIA}}{0.293193}}$$

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_1):

Absorbancia = 0.6379

$$U_{1-1} = 10^{\frac{0.760186 - 0.6379}{0.293193}}$$

$$U_{1-1} = 10^{0.417121419}$$

$$U_{1-1} = 2.613 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6385

$$U_{1-2} = 10^{\frac{0.760186 - 0.6385}{0.293193}}$$

$$U_{1-2} = 10^{0.415075034}$$

$$U_{1-2} = 2.601 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6373

$$U_{1-3} = 10^{\frac{0.760186 - 0.6373}{0.293193}}$$

$$U_{1-3} = 10^{0.419167804}$$

$$U_{1-3} = 2.625 \text{ug/mL}$$

Para la muestra C₂ se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U₂):

Absorbancia = 0.6244

$$U_{2-1} = 10^{\frac{0.760186 - 0.6244}{0.293193}}$$

$$U_{2-1} = 10^{0.463165075}$$

$$U_{2-1} = 2.905 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6231

$$U_{2-2} = 10^{\frac{0.760186 - 0.6231}{0.293193}}$$

$$U_{2-2} = 10^{0.467598909}$$

$$U_{2-2} = 2.935 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6242

$$U_{2-3} = 10^{\frac{0.760186 - 0.6242}{0.293193}}$$

$$U_{2-3} = 10^{0.463847203}$$

$$U_{2-3} = 2.910 \text{ug/mL}$$

2. Determinación del % de Potencia Antibiótica de las muestras problema

El % de potencia antibiótica de las muestras problema se determinó en función a la mediana de la concentración (Estándar 3: S3), cuya concentración es conocida (2.500µg/mL) y corresponde a un 100% de potencia.

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de potencia antibiótica

%P.A. (U_1):

$$\%P.A. (U_{1-1}) = 2.613 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-1}) = 104.52\%$$

$$\%P.A. (U_{1-2}) = 2.601 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 104.02\%$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 2.625 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 105.01\%$$

Para la muestra C_2 se tendrán los siguientes resultados de potencia antibiótica

%P.A. (U_2):

$$\%P.A. (U_{2-1}) = 2.905 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{2-1}) = 116.21\%$$

$$\%P.A. (U_{2-2}) = 2.935 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{2-2}) = 117.40\%$$

$$\%P.A. (U_{2-3}) = 2.910 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{2-3}) = 116.39\%$$

DÍA 3 DE ANÁLISIS

1. Determinación de la Concentración de las muestras problema

La concentración de las muestras problema se calculó mediante la interpolación de la recta estándar o patrón obtenida por transformación logarítmica y ajustada por cuadrados mínimos.

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{ABSORBANCIA} = 0.766828 - 0.299198 \cdot \text{LOG10_CONC}$$

Despejando la **Concentración (CONC)** se tiene que:

$$0.299886 \cdot \text{LOG10_CONC} = 0.766828 - \text{ABSORBANCIA}$$

$$\text{LOG10_CONC} = \frac{0.766828 - \text{ABSORBANCIA}}{0.299886}$$

$$\text{CONC} = 10^{\frac{0.766828 - \text{ABSORBANCIA}}{0.299886}}$$

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U_1):

Absorbancia = 0.6434

$$U_{1-1} = 10^{\frac{0.766828 - 0.6434}{0.299886}}$$

$$U_{1-1} = 10^{0.412433155}$$

$$U_{1-1} = 2.585 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6421

$$U_{1-2} = 10^{\frac{0.766828 - 0.6421}{0.299886}}$$

$$U_{1-2} = 10^{0.416778075}$$

$$U_{1-2} = 2.611 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6428

$$U_{1-3} = 10^{\frac{0.766828 - 0.6428}{0.299886}}$$

$$U_{1-3} = 10^{0.414438503}$$

$$U_{1-3} = 2.597 \text{ug/mL}$$

Para la muestra C₂ se tendrán los siguientes resultados de Concentración (U₂):

Absorbancia = 0.6266

$$U_{2-1} = 10^{\frac{0.766828 - 0.6266}{0.299886}}$$

$$U_{2-1} = 10^{0.468582888}$$

$$U_{2-1} = 2.942 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6271

$$U_{2-2} = 10^{\frac{0.766828 - 0.6271}{0.299886}}$$

$$U_{2-2} = 10^{0.466911765}$$

$$U_{2-2} = 2.930 \text{ug/mL}$$

Absorbancia = 0.6284

$$U_{2-3} = 10^{\frac{0.766828 - 0.6284}{0.299886}}$$

$$U_{2-3} = 10^{0.462566845}$$

$$U_{2-3} = 2.901 \text{ug/mL}$$

2. Determinación del % de Potencia Antibiótica de las muestras problema

El % de potencia antibiótica de las muestras problema se determinó en función a la mediana de la concentración (Estándar 3: S3), cuya concentración es conocida (2.500µg/mL) y corresponde a un 100% de potencia.

Así, para la muestra C_1 se tendrán los siguientes resultados de potencia antibiótica

%P.A. (U_1):

$$\%P.A. (U_{1-1}) = 2.585 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-1}) = 103.39\%$$

$$\%P.A. (U_{1-2}) = 2.611 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 104.43\%$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 2.597 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{1-3}) = 103.87\%$$

Para la muestra C_2 se tendrán los siguientes resultados de potencia antibiótica

%P.A. (U_2):

$$\%P.A. (U_{2-1}) = 2.942 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{2-1}) = 117.66\%$$

$$\%P.A. (U_{2-2}) = 2.930 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{2-2}) = 117.21\%$$

$$\%P.A. (U_{2-3}) = 2.901 \times \frac{100}{2.5}$$

$$\%P.A. (U_{2-3}) = 116.05\%$$

ANEXO N°14:

FOTOGRAFÍAS DE LAS PRUEBAS

FOTO N° 1: MUESTRAS DE CLORANFENICOL CÁPSULAS 500 mg.

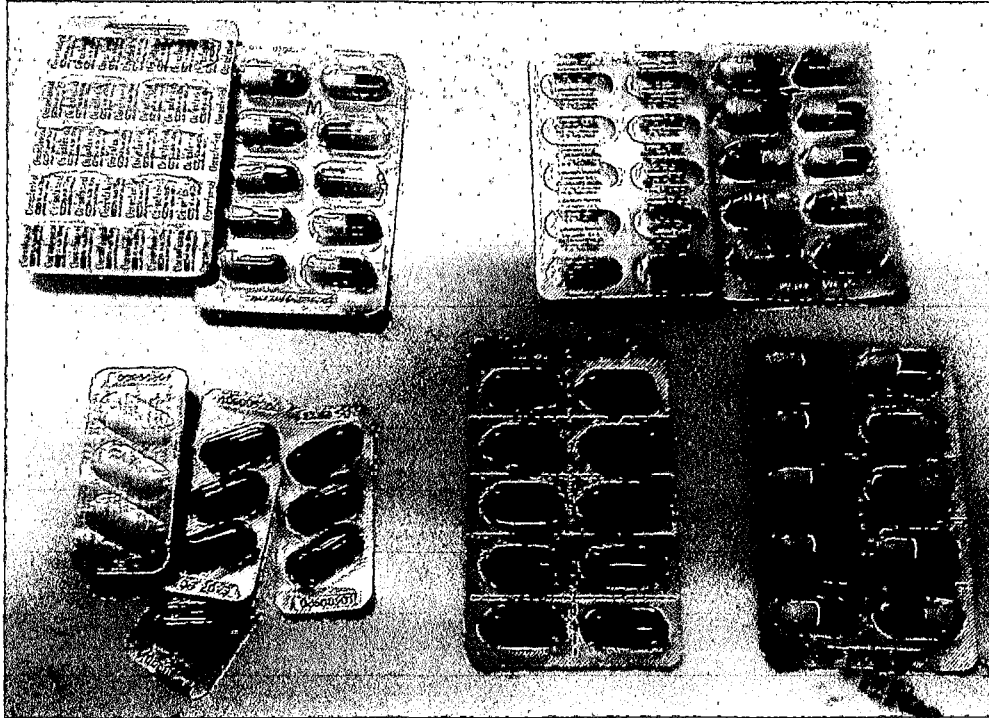


FOTO N° 2: MUESTRAS DE CLORANFENICOL SUSPENSIÓN ORAL 250 mg/mL.

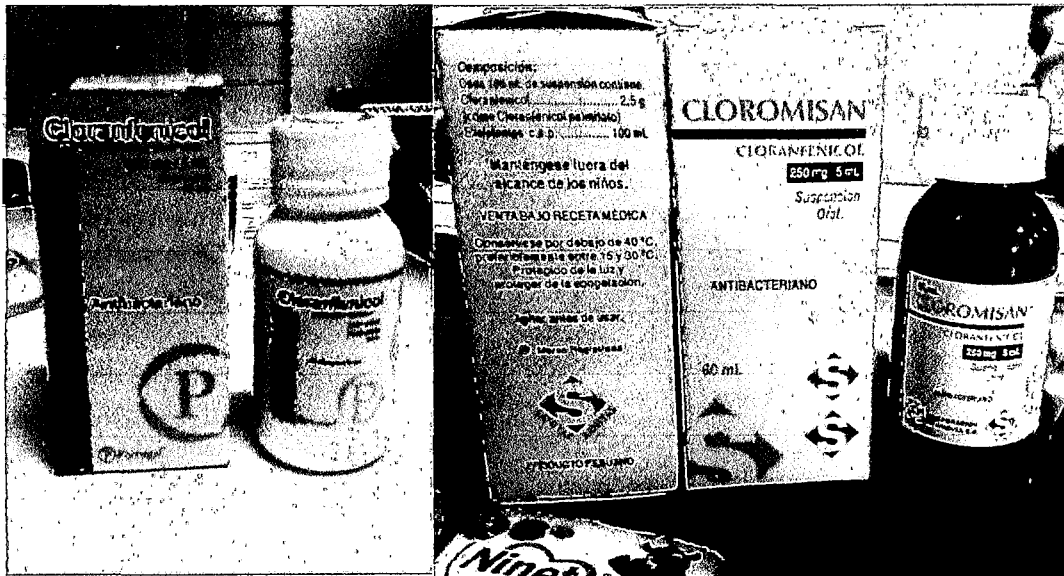


FOTO N°3: ESTÁNDAR SECUNDARIO DE CLORANFENICOL 98.45%.



FOTO N°4: MEDIOS ANTIBIÓTICOS EMPLEADOS PARA EL ANÁLISIS (1 Y 3 RESPECTIVAMENTE).

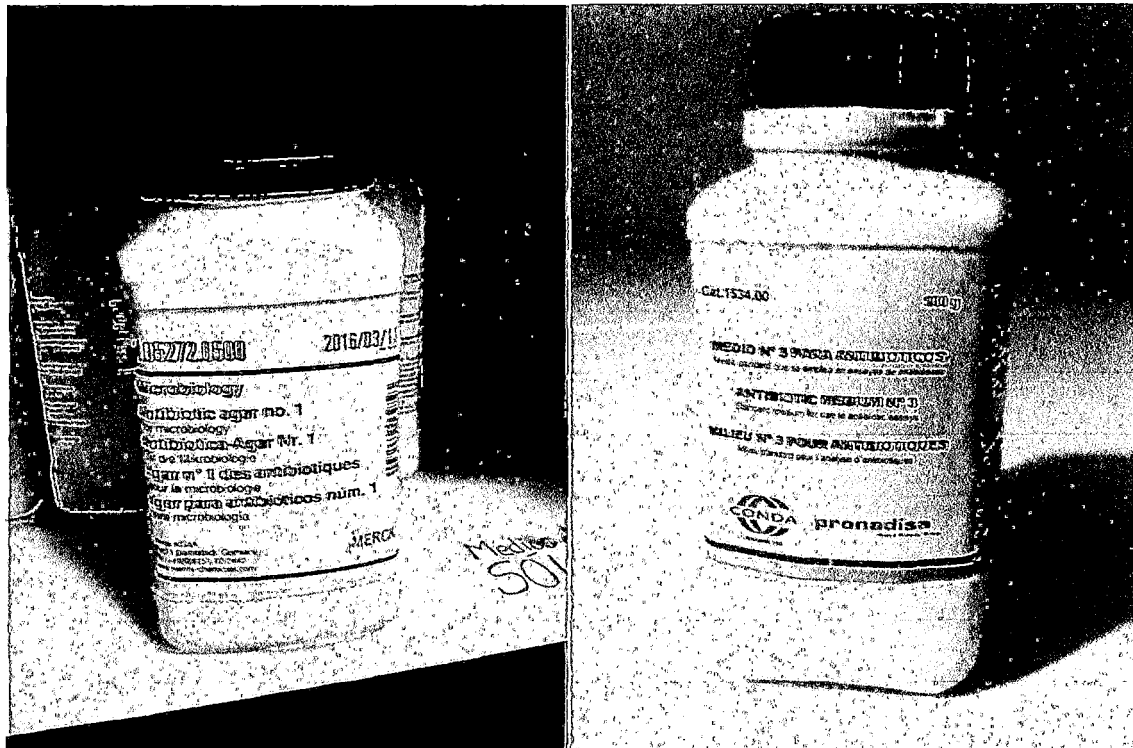


FOTO N° 5: CABINA DE BIOSEGURIDAD DONDE SE REALIZARON LOS CULTIVOS Y LA OBTENCIÓN DEL INÓCULO.

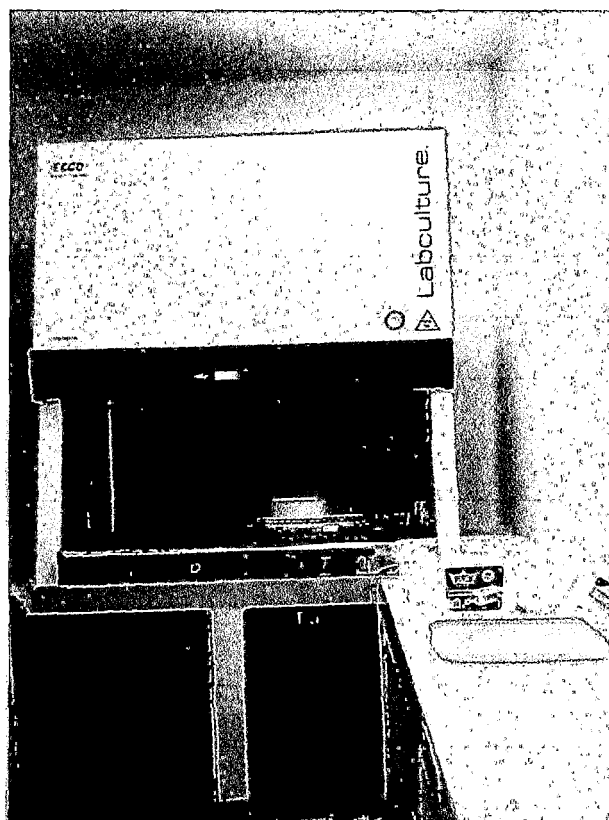


FOTO N° 6: ALGUNOS OTROS EQUIPOS UTILIZADOS DURANTE EL ANÁLISIS

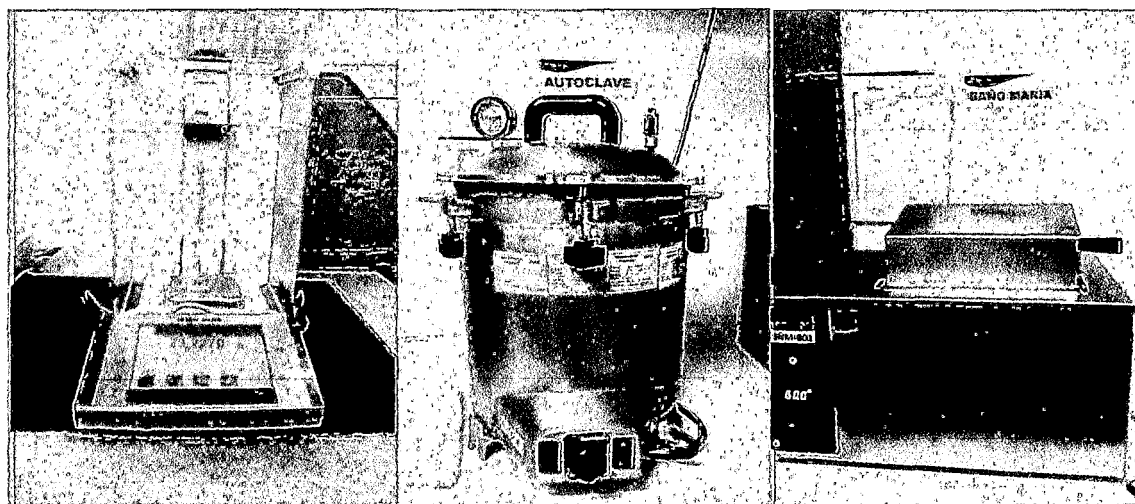


FOTO N° 7: PREPARACIÓN DEL MEDIO ANTIBIÓTICO N° 1 EN EL FRASCO ROUX.

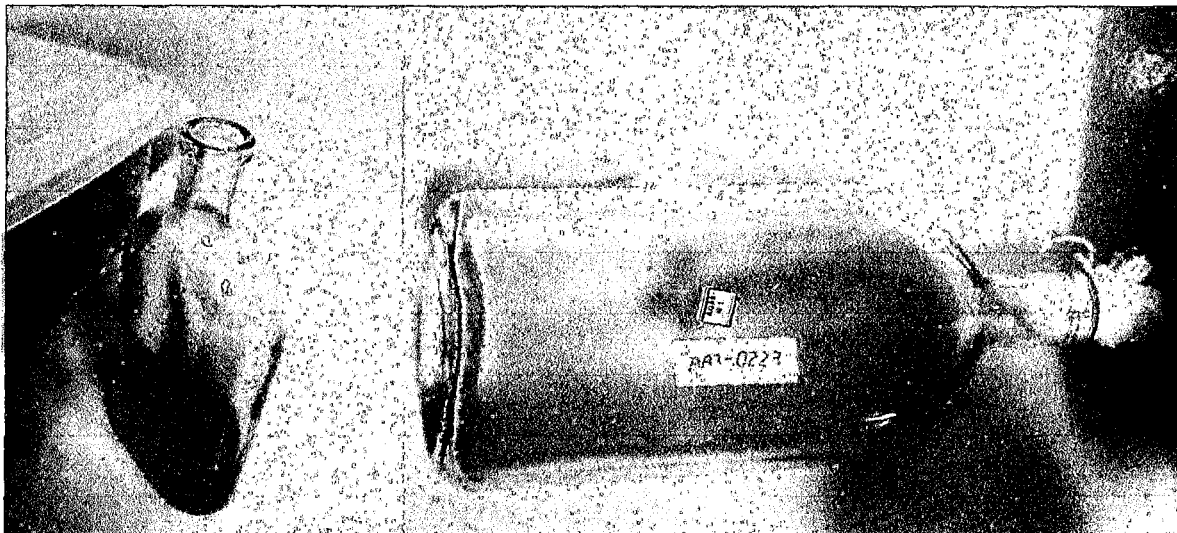


FOTO N° 8: SEMBRADO DE LA CEPA *Escherichia coli* ATCC 10536.

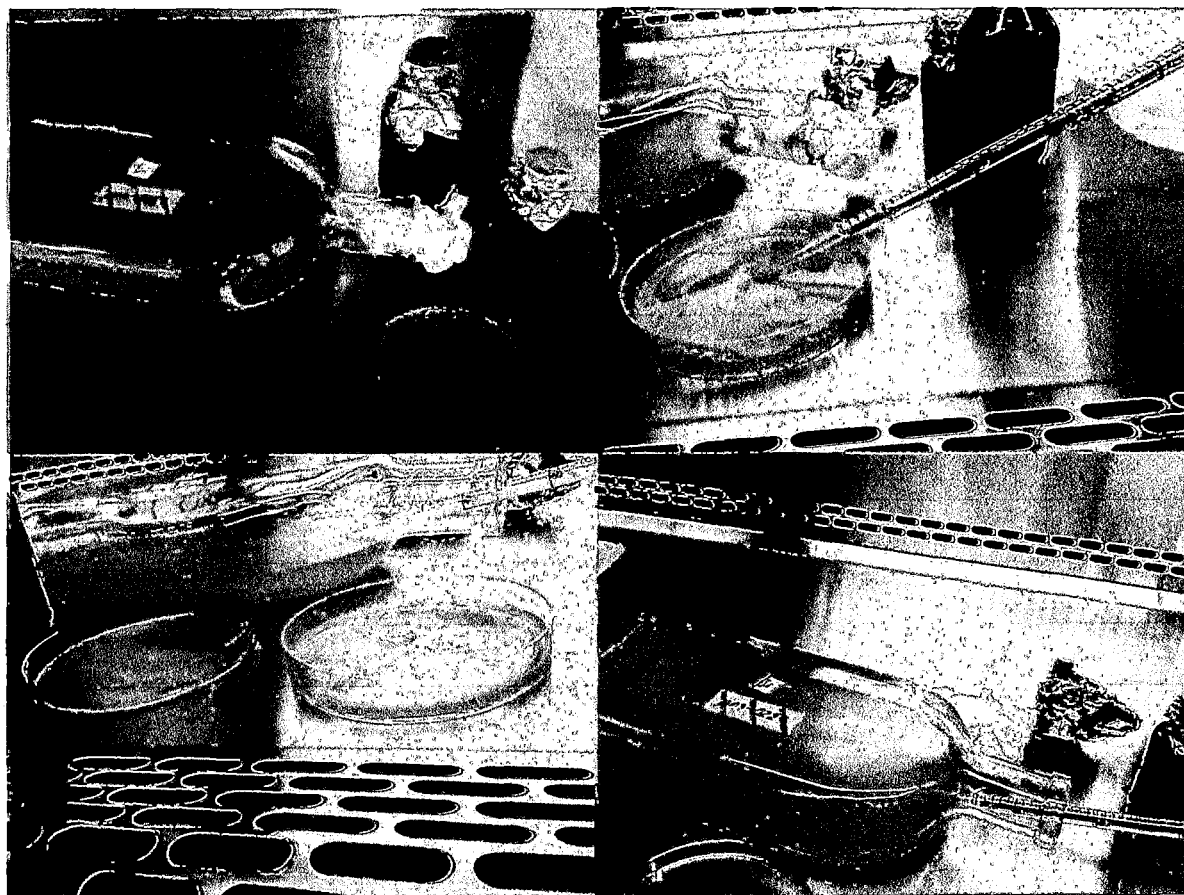


FOTO N° 9: INCUBACIÓN DE LA CEPA *Escherichia coli* ATCC.



FOTO N° 10: RECOLECTANDO LA SUSPENSIÓN DE INÓCULO DEL FRASCO ROUX.

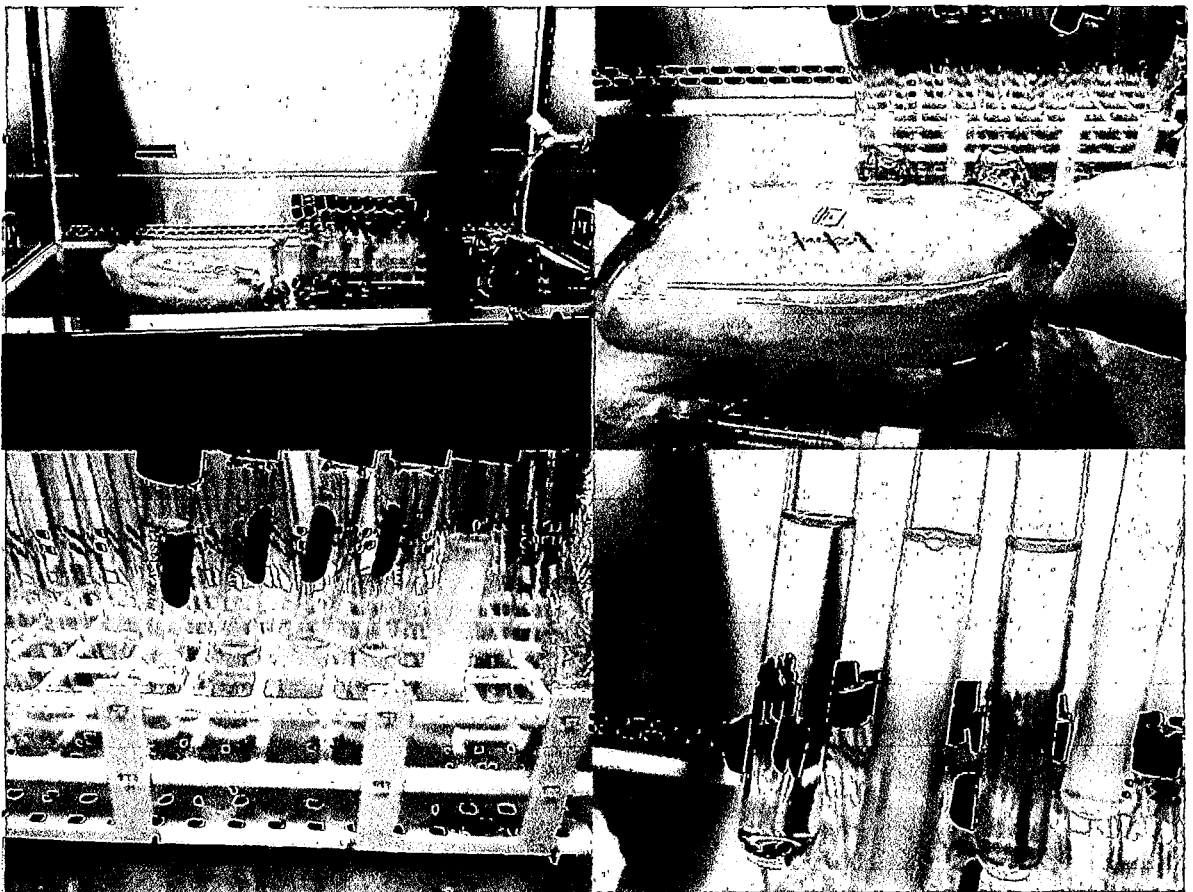


FOTO N° 11: PREPARANDO EL MEDIO ANTIBIÓTICO N° 3.



FOTO N° 12: PESANDO ESTÁNDARES Y MUESTRAS.

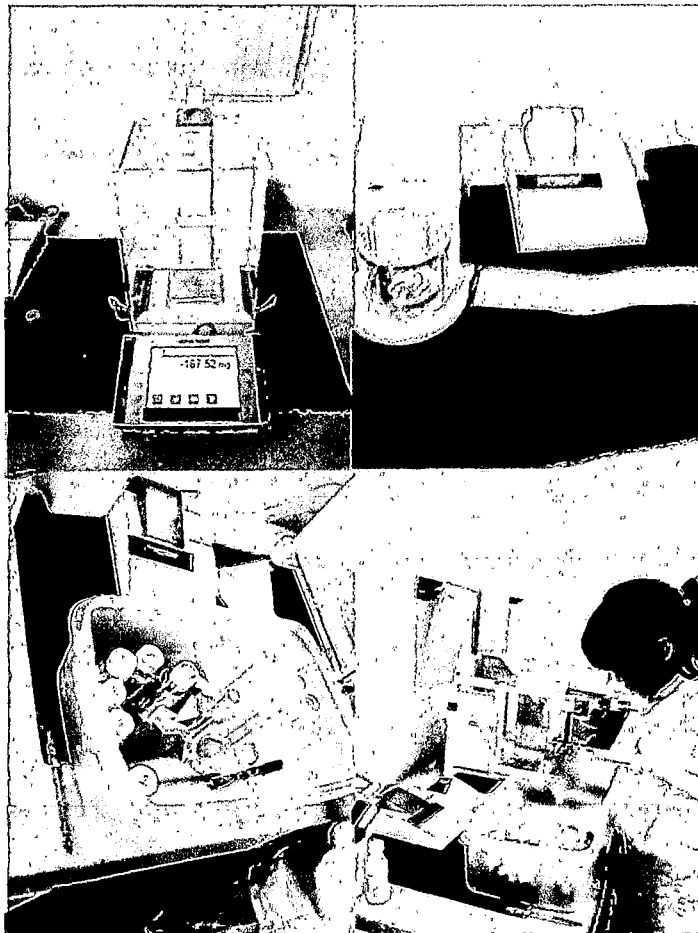


FOTO N° 13: PREPARANDO LOS ESTÁNDARES. HACIENDO LAS DILUCIONES RESPECTIVAS.



FOTO N° 14: PREPARANDO LAS MUESTRAS PROBLEMA.



FOTO N° 15: AGREGANDO 1 mL DE CADA DILUCIÓN DE PRUEBA A CADA TUBO.

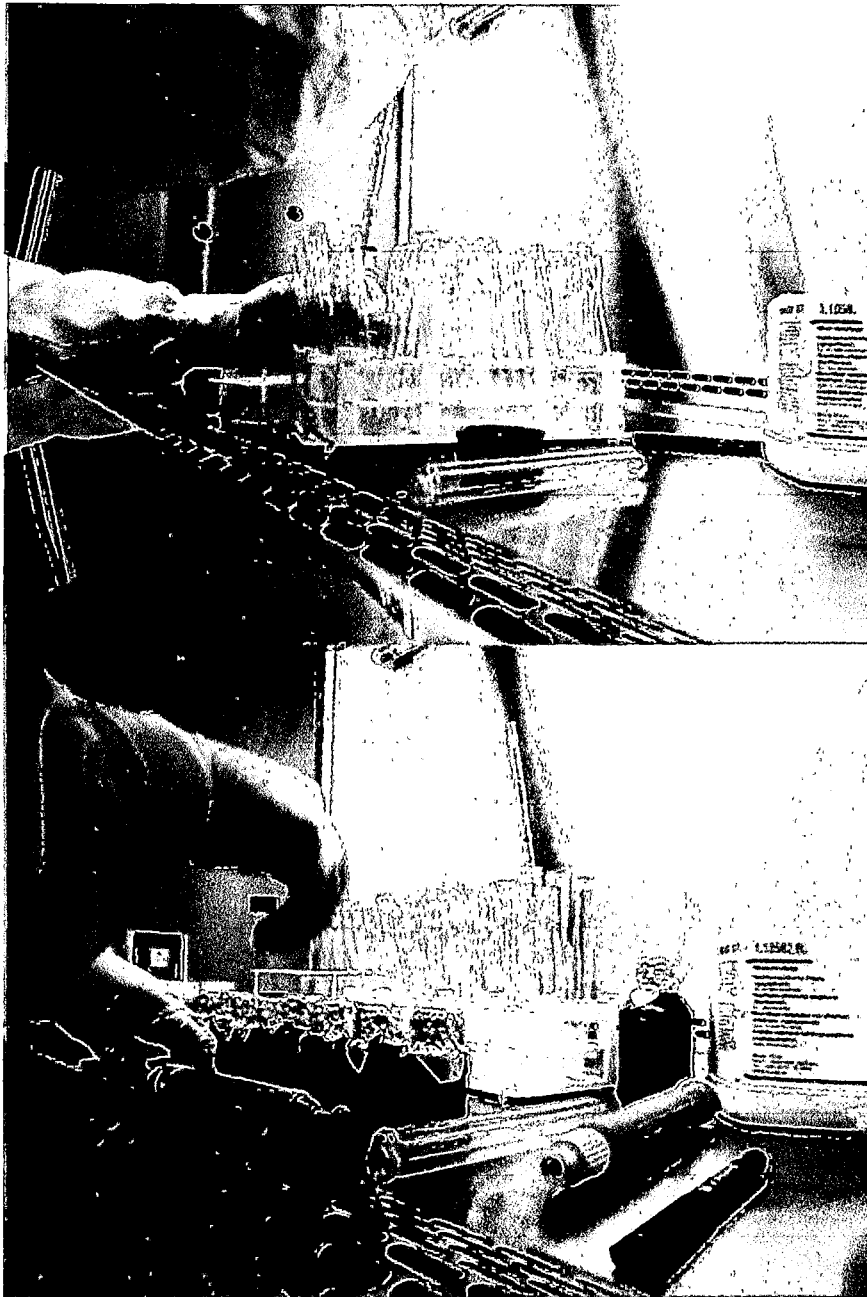


FOTO N° 16: AGREGANDO 9 mL DE INÓCULO A CADA TUBO QUE SE INCUBARÁN POR 24 HORAS DE 32 A 35 °C.

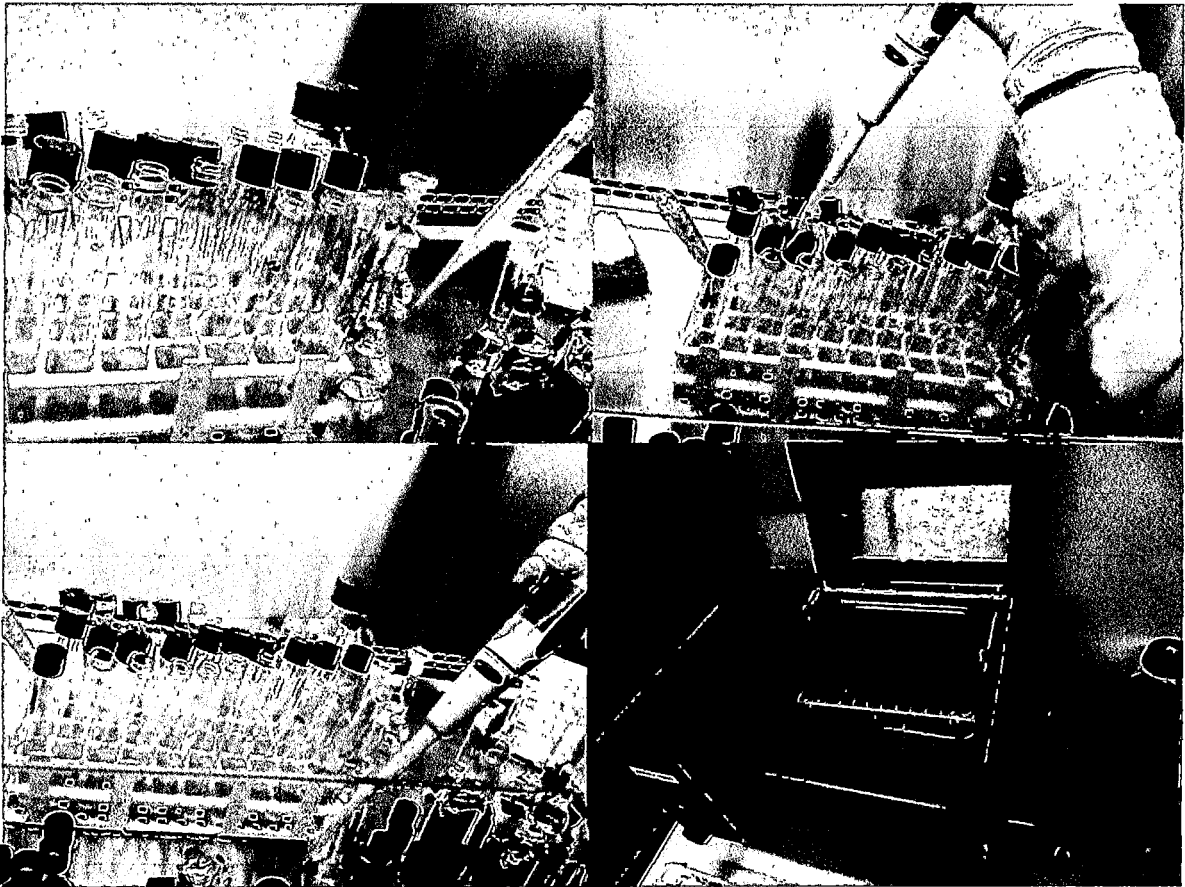


FOTO N° 17: FOTO N°: INACTIVANDO CADA UNO DE LOS TUBOS CON
FORMALDEHIDO.

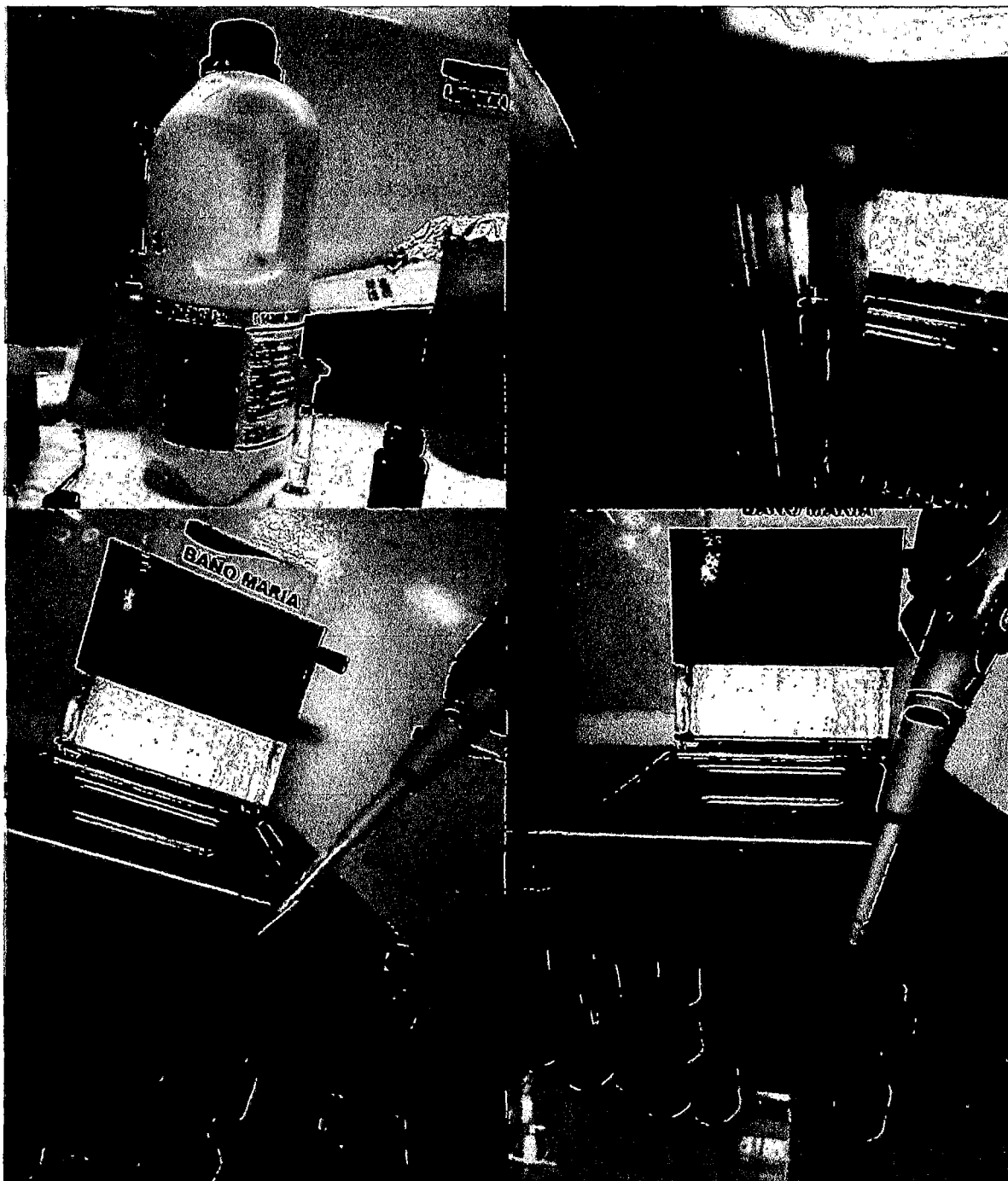


FOTO N° 18: HACIENDO LA LECTURA DE ABSORBANCIA DE TODOS LOS TUBOS.

