

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



IMPLEMENTACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO PARA EL
ENSAYO DE POTENCIA DE GENTAMICINA SULFATO SOLUCION
INYECTABLE POR EL METODO CILINDRO PLACA.

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

ROSA AMINTA MERLOS ALEMAN

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

DICIEMBRE, 2011

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL

DRA. ANA LETICIA DE AMAYA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

SECRETARIO

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL

Lic. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DE AREA DE ANALISIS DE ALIMENTOS, MICROBIOLOGICO

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

**ASESORA DE AREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACEUTICOS, COSMETICOS Y VETERINARIOS**

MSc. Rocío Ruano de Sandoval

DOCENTES DIRECTORAS

MSc. Norma Esthela Molina Velásquez

Lic. Silvia Carolina Muñoz Francés

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso por haberme dado la sabiduría, el entendimiento y la fortaleza para poder finalizar mis estudios universitarios, y por haberme ayudado a no darme por vencida en los momentos más difíciles de la realización de esta investigación.

A mi familia y a mi futuro esposo Héctor Gerardo por todo el cariño y apoyo que me han brindado a lo largo de mi vida y de mi formación profesional.

A mis docentes directoras MSc. Norma Esthela Molina y Lic. Silvia Carolina Muñoz, por haber confiado en mí para llevar a cabo esta investigación que será de utilidad para futuras generaciones en esta universidad, además por su colaboración incondicional y apoyo en el desarrollo de este trabajo.

A Corporación Bonima S.A de C.V por haberme brindado el estándar de trabajo y las muestras para poder realizar mi trabajo de graduación y a las autoridades de CENSALUD por haberme permitido realizar las prácticas de laboratorio en sus instalaciones.

A los docentes y personal de laboratorio de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, así como también a mis compañeros por haber sido una parte fundamental dentro de mi formación académica.

ÍNDICE

Resumen

CAPÍTULO I

1. Introducción xiv

CAPÍTULO II

2. Objetivos

CAPÍTULO III

3. Marco teórico 19

 3.1 Antibiótico 19

 3.2 Modo y mecanismo de acción 19

 3.2.1 Modo de acción 19

 3.2.2 Mecanismo de acción 20

 3.2.2.1 Inhibición de la síntesis de la pared celular 20

 3.2.2.2 Lesión de la membrana celular 21

 3.2.2.3 Inhibición de la síntesis proteica 21

 3.2.2.4 Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos 22

 3.3 Clasificación, estructura química y mecanismo de acción de los
 aminoglucósidos 22

 3.3.1 Aminoglucósido 22

 3.3.1.1 Clasificación de los aminoglucósidos 23

 3.3.1.2 Estructura de los aminoglucósidos 23

 3.3.1.3 Mecanismo de acción 24

3.4 Gentamicina	25
3.4.1 Estructura molecular de sulfato de Gentamicina	25
3.4.2 Propiedades terapéuticas	26
3.4.3 Producción de Gentamicina	26
3.4.4 Fórmula empírica	26
3.4.5 Descripción	26
3.4.6 Solubilidad	26
3.4.7 Usos del sulfato de Gentamicina	27
3.4.8 Dosis usual	27
3.4.9 Mecanismo de acción	27
3.4.10 Farmacocinética	28
3.4.10.1 Adsorción	28
3.4.10.2 Distribución	28
3.4.10.3 Metabolismo	29
3.4.10.4 Excreción	29
3.4.11 Contraindicaciones	29
3.4.12 Precauciones	29
3.4.13 Interacciones	30
3.5 Monografía USP 30-NF25	30
3.5.1 Gentamicina inyección	30
3.5.2 Envasado y almacenaje	31
3.5.3 Estándares de referencia USP<11>	31
3.5.4 Identificación	31
3.5.5 Endotoxina bacteriana	32

3.5.6 pH	32
3.5.7 Partículas	32
3.5.8 Disolventes residuales	32
3.5.9 Otros requisitos	32
3.5.10 Valoración	32
3.6 Microorganismo de trabajo	33
3.6.1 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	33
3.7 Valoración microbiológica según Farmacopea	34
3.7.1 Métodos microbiológicos	35
3.7.2 Método turbidimétrico	35
3.8 Método difusión en placa	35
3.8.1 Fundamento	35
3.8.2 Metodología general para el ensayo USP	35
3.8.3 Especificaciones de la USP	37
3.8.3.1 Medio, microorganismo, estándar	37
3.8.3.2 Material y cristalería	37
3.9 Parámetros de desempeño	38
3.9.1 Exactitud	38
3.9.2 Precisión	39
3.9.2.1 Repetibilidad	39
3.9.2.2 Reproducibilidad	40
3.9.2.3 Robustez	41
3.9.3 Especificidad	41
3.9.4 Limite de detección	42

3.9.5 Limite de cuantificación	42
3.9.6 Linealidad y Rango	43
3.10 Parámetros a evaluar en la investigación	43
CAPÍTULO IV	
4. Diseño metodológico	45
4.1 Tipo de estudio	45
4.2 Investigación bibliográfica	45
4.3 Investigación de Campo	45
4.3.1 Universo	45
4.3.2 Muestra	46
4.3.3 Muestreo	46
4.3.4 Formulario para recolección de datos	46
4.4 Parte Experimental	47
4.4.1 Ensayo de Potencia de Antibiótico según USP 30	47
4.4.2 Técnica para el Ensayo de Potencia para Gentamicina	53
4.4.2.1 Preparación del Inoculo	53
4.4.2.2 Estandarización del Inoculo	54
4.4.2.3 Preparación de la Capa Inoculo	55
4.4.2.4 Preparación de los Estándares	56
4.4.2.4.1 Preparación de la Solución Stock	56
4.4.2.4.2 Preparación de la Línea Dosis-Respuesta	57
4.4.2.4.2.1 Preparación del Estándar A	57
4.4.2.4.2.2 Preparación del Estándar B	57
4.4.2.4.2.3 Preparación del Estándar C	57

4.4.2.4.2.4 Preparación del Estándar D	58
4.4.2.4.2.5 Preparación del Estándar E	58
4.4.2.4.3 Preparación de la Muestra	58
4.4.2.5 Colocación y Llenado de Cilindros	59
4.4.2.6 Incubación de Placas	60
4.4.2.7 Lectura de Halos de Inhibición	60
4.4.2.8 Cálculos	61
4.4.3 Evaluación de parámetros de desempeño	63
4.4.3.1 Pasos Previos a la Evaluación de los Parámetros de Desempeño	63
4.4.3.1.1 Calibración del Equipo	63
4.4.3.1.2 Calificación del Equipo	65
4.4.3.1.3 Control del Medio de Cultivo	66
4.4.3.1.4 Tipificación del Microorganismo de prueba	70
4.4.3.2 Parámetros de desempeño	73
4.4.3.2.1 Linealidad y rango	73
4.4.3.2.2 Exactitud	78
4.4.3.2.3 Precisión	80
4.4.4 Elaboración del Material Didáctico	85
CAPÍTULO V	
5. Resultados y Análisis de resultados	88

CAPÍTULO VI

6. Conclusiones	99
-----------------	----

CAPÍTULO VII

7. Recomendaciones	102
--------------------	-----

Bibliografía

Anexos

RESUMEN

Los parámetros de desempeño son características de funcionamiento que debe de presentar un método de análisis para garantizar la confiabilidad de los datos obtenidos.

La técnica para la determinación de potencia de Gentamicina por el método cilindro placa aplicada en esta investigación se tomó conforme a los criterios y especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP 30NF25) a excepción de la concentración media que se estipula para este antibiótico; ya que la declarada de acuerdo a los resultados obtenidos en el laboratorio no cumplía con las especificaciones de la USP. Por lo fue necesario que el método se adaptara a las condiciones del laboratorio de microbiología a una concentración de 3 µg/mL. Dentro de este trabajo se detalla el procedimiento que se debe de realizarse para el desarrollo exitoso del ensayo de potencia. El objetivo principal de esta investigación fue la implementación de los parámetros de desempeño (linealidad, exactitud, precisión y rango) del método cilindro placa para la determinación de potencia de Gentamicina. Para ello fueron necesarios una serie de análisis repetitivos, utilizando diferentes condiciones y distintos analistas en ciertos parámetros con lo que se pone a prueba la robustez del método.

La parte práctica fue realizada en el Laboratorio de microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) en un período de tiempo de un año. Al finalizar esta investigación se puede expresar que la metodología analítica desarrollada tuvo un comportamiento preciso (coeficientes de variación en un rango entre 1.0 -1.68 %), Lineal (coeficiente

de correlación mayor que 0.99) Exacto con “t” experimentales menores a la 1.86 y porcentajes de recuperación en el rango 96.9 a 102.9 % en el rango de concentraciones 75-125%.

De acuerdo a los resultados que se obtuvieron se avala esta metodología ya que proporciona resultados satisfactorios con una precisión, exactitud y linealidad comprobada y se recomienda que al ser utilizada esta metodología es de especial consideración que se desarrolle de la forma en que ha sido planteada la técnica ya que cualquier cambio puede generar errores no contemplados en el análisis de parámetros de desempeño.

Además se elaboró un material didáctico en el cual se especifica la técnica de análisis para que los estudiantes puedan desarrollar exitosamente en sus prácticas de laboratorio el ensayo de potencia por el método cilindro placa.

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

En la industria farmacéutica se requiere de una serie de pruebas que aseguren la calidad de los medicamentos, una prueba importante es la determinación de la potencia, parámetro fundamental para garantizar a la empresa farmacéutica y a los clientes el cumplimiento de ciertas especificaciones para mantener un alto nivel de efectividad y eficacia de los medicamentos.

El laboratorio de microbiología de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, al no considerar factores que inciden en la aplicación de la metodología establecida por la Farmacopea de los Estados Unidos se ven limitados a proveer resultados confiables al desarrollar ensayos de potencia por el método cilindro placa, lo que crea una dificultad en el fortalecimiento del desarrollo de habilidades y destrezas de los estudiantes en formación.

Por lo anterior, la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador al tratarse de una institución sin fines político-económicos inmersos, resulta indispensable que se apliquen métodos analíticos que superen las interferencias de manera que, los resultados sean confiables y seguros, para que los estudiantes puedan inferir en una forma imparcial y científica sobre las muestras analizadas.

Por todas las razones antes mencionadas, se dirigió la presente investigación a proporcionar una metodología adecuada para el análisis de

Gentamicina solución inyectable por el método cilindro placa, se desarrollo en el Laboratorio de Microbiología de CENSALUD para ser aplicada en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química y Farmacia, donde se evaluaron los parámetros de desempeño: linealidad, rango, exactitud y precisión; de ésta manera quedó demostrado científicamente que la metodología desarrollada cumple con las características de desempeño y funcionamiento, con lo que disminuye el margen de error y aumenta la reproducibilidad de los resultados.

Además, se desarrolló un material didáctico como un aporte extra del trabajo de investigación, donde en forma sencilla y esquemática se detallaron los pasos para la implementación del ensayo de potencia por el método cilindro placa. Se entregaron dos ejemplares uno a la cátedra de Control de Calidad de Productos Farmacéuticos Cosméticos Y Veterinarios y otro a la cátedra de Microbiología Aplicada III de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, y de esta manera dar un aporte sustancial a la población estudiantil que requiera de dicho material.

CAPÍTULO II
OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL:

Implementar los parámetros de desempeño para el ensayo de potencia de Gentamicina sulfato solución inyectable por el método cilindro placa.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 2.2.1 Desarrollar una marcha analítica aplicada al ensayo de potencia por método cilindro placa para Gentamicina sulfato solución inyectable.
- 2.2.2 Evaluar los parámetros de desempeño: linealidad, rango, exactitud y precisión, según condiciones reales implementadas en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- 2.2.3 Elaborar material didáctico del método cilindro placa que será proporcionado a los coordinadores de las asignaturas: Control de Calidad de Productos Farmacéuticos (Humanos y Veterinarios) y Microbiología Aplicada III, de manera que, sean utilizados por los estudiantes de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

CAPÍTULO III
MARCO TEÓRICO

3. MARCO TEÓRICO.

3.1 ANTIBIÓTICO.

Es una sustancia química producida por un ser vivo o derivada sintéticamente de ella; que a bajas concentraciones mata por su acción bactericida o impide el crecimiento por su acción bacteriostática de ciertas clases de microorganismos sensibles, y que por su efecto, se utiliza en medicina humana, animal para tratar una infección producida por dichos microorganismos.⁽⁵⁾

3.2 MODO Y MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS.

Todos los antibióticos poseen un modo de acción y un mecanismo de acción que le confiere sus propias características para que estos puedan actuar contra las bacterias.

3.2.1 MODO DE ACCIÓN.

Al referirse al mecanismo general de acción de los antibióticos, se ha hecho constar que algunos son predominantes bactericidas y otros bacteriostáticos. La bacteriostasis puede ser importante para la curación de proceso infeccioso al intervenir las defensas del organismo para destruir los microorganismos al inhibir su multiplicación.

Al emplear antibióticos bactericidas que al destruir las bacterias hace fácil su eliminación con la ayuda de las defensas orgánicas, mientras si se emplea antibióticos bacteriostáticos la curación depende sobre todo de las defensas

del organismo, de manera que, si dichas defensas son insuficientes o si se interrumpe prematuramente la droga, la población bacteriana puede aumentar de nuevo y producirse una recaída.

Estas sustancias antibacterianas para producir la acción bacteriostática o bactericida lo hacen interfiriendo con los mecanismos fisiológicos de los microorganismos.⁽⁵⁾

3.2.2 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS.

3.2.2.1 INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE LA PARED CELULAR.

El componente esencial de dicha pared es mucopéptido; el peptidoglucano es un componente de la pared celular la cual le confiere estabilidad, cuya síntesis es impedida por el antibiótico por inhibición de los sistemas enzimáticos correspondientes, la droga se fija en la pared celular y cuando se produce la división celular de la bacteria, aparecen defectos en dicha pared, el microorganismo se hace osmóticamente sensible, penetra líquido en su interior, estalla y se lisa, así actúan⁽⁵⁾:

- Penicilinas,
- Cefalosporinas,
- Bacitracinas,
- Cicloserinas y
- Vancomicina.

3.2.2.2 LESIÓN DE LA MEMBRANA CELULAR.

Los antibióticos que actúan por este mecanismo se fijan a nivel de los fosfolípidos de la membrana celular, formando microporos, en esta forma se afectan importantes funciones celulares, pues en la membrana existen sistemas enzimáticos vitales, y además rige la entrada y salida de elementos nutritivos, de manera que el antibiótico provoca un escape de proteínas y nucleótidos lo que produce daño o muerte celular, actúan de este modo ⁽⁵⁾:

- Polimixina B,
- Colistina,
- Nistatina y
- Anfotericina B.

3.2.2.3 INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS PROTEICA.

Existen antibióticos que bloquean los pasos necesarios para dicha síntesis, actuando sobre los ribosomas en las unidades 30S y 50S encargados de sintetizar proteínas a partir de la información genética en forma de Acido ribonucleico mensajero (ARNm) y en esta forma la vida de la bacteria queda afectada. Actúan así ⁽⁵⁾:

- Cloranfenicol,
- Tetraciclinas,
- Aminoglicosidos,
- Eritromicina,
- Espiramicina,
- Lincomicina

3.2.2.4 INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS.

El ácido desoxirribonucleico o ADN es esencial para la vida celular, los antibióticos inhibidores de la síntesis del ADN forman un complejo con el ADN, este complejo inhibe la formación de ARN y bloquea la formación de ARNm, y de esta forma bloquea la formación del ADN.

Por otra parte, bloquea la formación del ácido paraaminobenzoico (PABA), que constituye un metabolismo esencial que es precursor de la síntesis del ácido fólico y ésta es una etapa importante para la síntesis de los ácidos nucleicos. Puede actuar inhibiendo dicha síntesis la Griseofulvina (5).

3.3 CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA QUÍMICA, MECANISMO DE ACCION DE LOS AMINOGLUCÓSIDOS.

3.3.1 AMINOGLUCÓSIDOS.

Los aminoglucósidos son antibióticos bactericidas que desempeñan un papel relevante en el tratamiento de infecciones graves causadas por bacterias gramnegativas aeróbicas (sobre todo algunas *Enterobacteriaceas* y *Pseudomonas*), no obstante por la necesidad de administración parenteral para conseguir un efecto sistémico son suministrados, pero por su frecuente toxicidad constituyen importantes limitaciones para el empleo de este tipo de antibióticos.

3.3.1.1 CLASIFICACIÓN DE LOS AMINOGLUCÓSIDOS.

Se clasifican en dos grupos: (8)

Aminoglucósido con aminociclitol.

- Aminociclitol desoxiestreptamina
- Familia Kanamicina
- Familia Gentamicina

Aminociclitol sin aminoglucósido.

Espectinomicina.

3.3.1.2 ESTRUCTURA DE LOS AMINOGLUCÓSIDOS.

Los aminoglucósidos se denominan así por su estructura química. Todos contienen un anillo aminociclitol unido por enlaces glucosídicos a dos o más azúcares (generalmente aminoazúcares). (6)

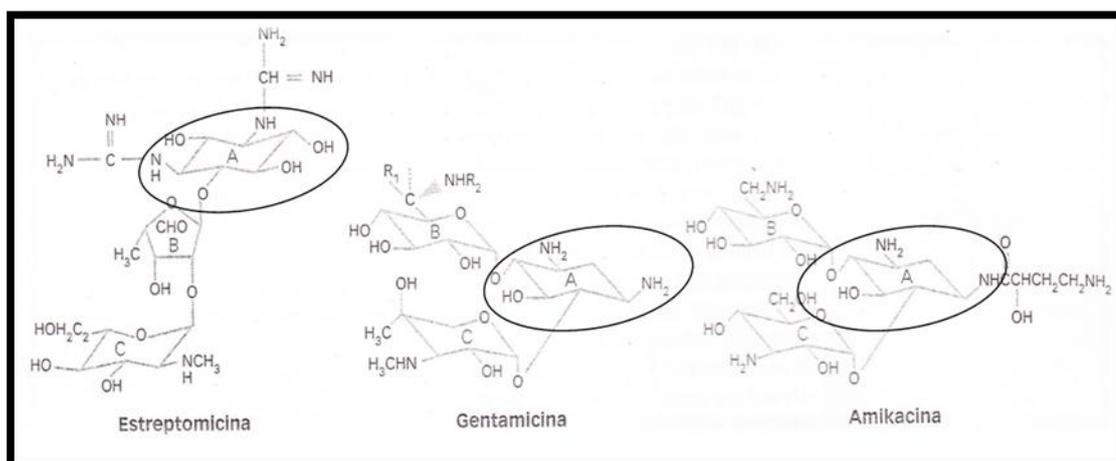


Figura № 1 Las estructura encerradas en los círculos hacen referencia al anillo aminociclitol. (6)

3.3.1.3 MECANISMO DE ACCIÓN.

Todos los aminoglucósidos acceden al interior bacteriano mediante mecanismos de transporte dependientes de energía, que sólo se producen en condiciones aerobias y alteran la síntesis proteica bacteriana en los ribosomas.

Esta acción no puede explicar por sí sola el efecto bactericida, pues otros inhibidores de la síntesis proteica son sólo bacteriostáticos, por ello se ha propuesto que otros mecanismos (principalmente alteraciones en la composición de la membrana bacteriana y, en menor medida, modificaciones en el metabolismo y la respiración bacteriana) podrían estar involucrados en el efecto bactericida.⁽⁶⁾

En las bacterias Gramnegativas los aminoglucósidos cruzan la membrana externa mediante mecanismos pasivos (no dependientes de energía) y acceden al espacio periplásmico. Desde aquí alcanzan el interior bacteriano, atravesando la membrana interna (citoplásmica), mediante mecanismos de transporte dependientes de energía que no se producen en condiciones anaerobias. Ello explica la resistencia a los aminoglucósidos de las bacterias anaerobias estrictas y de las facultativas cuando crecen en un medio anaerobio.

Estos mecanismos de transporte activo también permiten el paso de los aminoglucósidos a través de la membrana plasmática hacia el citoplasma de algunos cocos grampositivos.⁽⁶⁾

El acceso al citoplasma bacteriano es inhibido por cationes divalentes (Ca^{2+} y Mg^{2+}), hiperosmolaridad y reducción del pH. Por ello, la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos se reduce notablemente en una orina ácida hiperosmolar o en un medio purulento. (6)

En el citoplasma bacteriano, los aminoglucósidos se unen a los ribosomas (en la subunidad 30S y algunos aminoglucósidos también en la 50S) e interfieren en la síntesis proteica bacteriana al alterar la lectura del ARNm. (6)

El resultado final puede ser:

- Bloqueo del inicio de la síntesis proteica.
- Terminación prematura de la lectura del ARN (con la consiguiente síntesis de proteínas incompletas).
- Lectura errónea del ARNm con la incorporación de aminoácidos incorrectos a la proteína sintetizada. (6)

3.4 GENTAMICINA.

3.4.1 ESTRUCTURA MOLECULAR DE SULFATO DE GENTAMICINA.

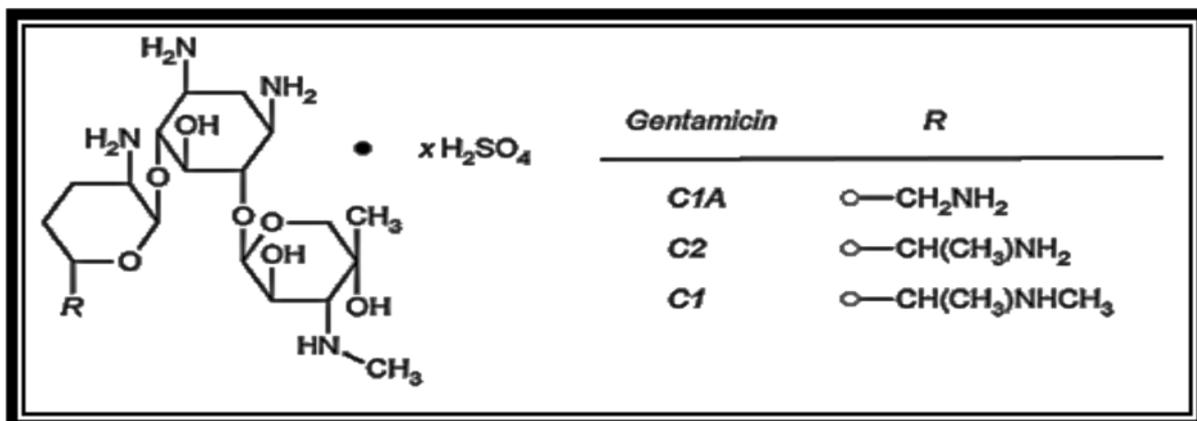


Figura № 2. Estructura de de sulfato de Gentamicina con sus respectivos isómeros C1A, C2 y C1. (11)

3.4.2 PROPIEDADES TERAPÉUTICAS

Antibiótico aminoglucósido bactericida. (6)

3.4.3 PRODUCCIÓN DE GENTAMICINA.

Actualmente la producción de aminoglucósidos solo constituye el 3% del total de antibióticos y se emplean como antibióticos de reserva cuando otros fallan.

La Gentamicina es un antibiótico aminoglucósido obtenido a partir de la *Micromonospora purpurea*. Este antibiótico es producto de la mezcla de tres sustancias pseudooligosacaridas isómeras llamadas Gentamicinas C1= 25 – 50 %, C1A= 15-40% y gentamicina C2=20-50%. (2).

3.4.4 FÓRMULA EMPÍRICA.

Sulfato de Gentamicina: $C_{21}H_{43}N_5O_7 \cdot H_2SO_4$

Peso molecular: 575.67 g/mol.

3.4.5 DESCRIPCIÓN.

Polvo incoloro a blanco, higroscópico y sin olor, es estable a la luz, aire y calor. Es incompatible con oxidantes fuertes. (2)

3.4.6 SOLUBILIDAD.

Libremente soluble en agua (10 mg/ml en agua), prácticamente insoluble en alcohol, éter, acetona, cloroformo y benceno. (11)

3.4.7 USOS DEL SULFATO DE GENTAMICINA.

Antibiótico bactericida usado, generalmente en combinación con otros, para el tratamiento de infecciones sistémicas severas debidas a microorganismos Gramnegativos y a otros: Infecciones del tracto biliar, brucelosis, fibrosis cística, endocarditis, endometritis, gastroenteritis, listeriosis, meningitis, otitis externa y media, enfermedad inflamatoria pélvica, afecciones de la piel tales como quemaduras y úlceras, y infecciones del tracto urinario tales como pielonefritis aguda, así como en la profilaxis de infecciones quirúrgicas y en el tratamiento de pacientes inmunodeficientes.⁽¹¹⁾

3.4.8 DOSIS USUAL.

Expresada en términos de Gentamicina base: 3-5 mg/Kg de peso corporal intramuscularmente cada 8 horas, aunque las dosis varían sustancialmente dependiendo del tipo de tratamiento o profilaxis y del paciente. El tratamiento suele estar limitado a 7-10 días.⁽¹¹⁾

3.4.9 MECANISMO DE ACCIÓN.

Antibiótico bactericida atraviesa la membrana externa con un mecanismo de transporte activo para las gramnegativas y pasivo para algunos cocos grampositivos; posteriormente atraviesa la pared celular y la membrana citoplasmática por transporte dependiente de energía hasta el citoplasma donde inhibe la síntesis de proteínas mediante la unión directa a la subunidad ribosomal 30S a nivel de las proteínas S12, S3, S4, S5.

Bloqueando el inicio de la síntesis proteica al fijar el complejo 30S-50S al codón de inicio del ARN mensajero acumulándose como complejos de inicio anormales.⁽³⁾

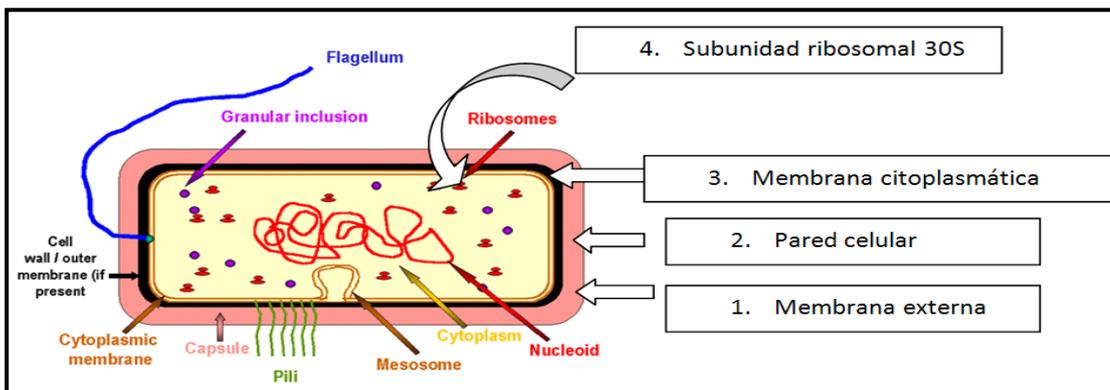


Figura №3 Mecanismo de acción de la Gentamicina

3.4.10 FARMACOCINÉTICA.

3.4.10.1 ADSORCIÓN.

Después de administración oral, la Gentamicina se absorbe escasamente. Se administra por vía parenteral; después de la aplicación IM, las concentraciones máximas en suero ocurren en 30 a 90 min.⁽³⁾

3.4.10.2 DISTRIBUCIÓN.

Después de administración parenteral, la gentamicina se distribuye ampliamente; la penetración intraocular es débil. La penetración al LCR (líquido cerebrospinal o cefalorraquídeo) es baja, aún en pacientes con meningitis y la administración intraventricular produce concentraciones altas en todo el SNC. Su unión a proteínas es mínima. La Gentamicina atraviesa la placenta.⁽³⁾

3.4.10.3 METABOLISMO.

No se metaboliza. (3)

3.4.10.4 EXCRECIÓN.

La Gentamicina se excreta principalmente en la orina por filtración glomerular (80-98 %); cantidades pequeñas pueden excretarse en la bilis y en la leche materna. En adultos la vida media de eliminación es de 2 a 3 h. En pacientes con daño renal grave, la vida media puede extenderse desde 24 hasta 60 h. (3)

3.4.11 CONTRAINDICACIONES.

La Gentamicina está contraindicada en pacientes con hipersensibilidad conocida al fármaco o cualquier otro aminoglucósido.

3.4.12 PRECAUCIONES.

La Gentamicina se usará con precaución en pacientes con:

- Disminución de la función renal, recién nacidos y lactantes y personas de edad avanzada: Por el potencial para la disminución de la depuración del fármaco. (3)
- Tinnitus, vertigos, o pérdida de la audición de alta frecuencia: susceptibles a ototoxicidad. (3)
- Deshidratación: Aumenta de riesgo de ototoxicidad y nefrotoxicidad. (3)
- Miastenia grave, parkinsonismo o hipocalcemia: Aumenta la debilidad muscular. (3)

3.4.13 INTERACCIONES.

El uso simultáneo con los siguientes fármacos puede aumentar el riesgo de nefrotoxicidad, ototoxicidad o neurotoxicidad:

- Metoxiflurano, - Polimixcina B
- Vancomicina - Vapreomina
- Cisplatino - Cefalosporinas.

El riesgo de ototoxicidad también aumenta mediante el uso con ácido etacrínico, furosemida, bumetadina, urea o manitol. El dimenhidrato y otros antieméticos y antivertiginosos pueden enmascarar la ototoxicidad por gentamicina. ⁽¹¹⁾

3.5 MONOGRAFÍA DE LA FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS

USP30-NF25 (Ver anexo № 1)

3.5.1 GENTAMICINA, INYECCIÓN.

La inyección de Gentamicina contiene una cantidad de sulfato de Gentamicina equivalente a no menos del 90.0 por ciento y no más de 125.0 por ciento de la cantidad de Gentamicina declarada en la etiqueta. Puede contener amortiguadores de pH, conservantes y agentes complejantes adecuados, a menos que esté destinada para uso intratecal, en cuyo caso sólo contiene agentes de tonicidad adecuada.

3.5.2 ENVASADO Y ALMACENAJE.

Conservar en envases monodosis o multidosis, preferentemente en vidrio de tipo I.

3.5.3 ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP <11>.

ER endotoxina USP. ER Sulfato de Gentamicina USP.

3.5.4 IDENTIFICACIÓN.

Se aplican por separado un volumen de inyección equivalente a 20 µg de Gentamicina y el mismo volumen de una preparación similar de ER Sulfato de Gentamicina USP a una placa para cromatografía en capa delgada adecuadas (ver Cromatografía <621>), recubierta con una capa de 0.25 mm de gel de sílice para cromatografía con un tamaño promedio de poro 6 nm. [NOTA: Diluir la inyección con agua, si es necesario, para obtener una solución de prueba que contenga 1000 µg de Gentamicina por mL.

Cuando la inyección contiene menos de 1000 µg por mL, aplicar un volumen de la misma, equivalente a 20 µg de Gentamicina, a la placa cromatográfica, en dos porciones separadas de no más de 20 µL cada una y dejar que cada aplicación se seque antes de aplicar la siguiente.] Colocar la placa en una cámara de cromatografía adecuadas, y desarrollar el cromatograma en una fase móvil constituida por la fase interior de una mezcla de cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (20:13:10) hasta que el disolvente se ha desplazado cerca de tres cuartas partes de de la longitud de la placa.

Retirar la placa de la cámara, secar al aire, y exponer la placa a los vapores de yodo en un frasco de detección que contiene cristales de yodo: las intensidades y valores R_f de las tres principales manchas obtenidas a partir de la solución de prueba corresponden a los obtenidos a partir de la solución estándar.

3.5.5 ENDOTOXINAS BACTERIANAS <85>.

No contiene más de 0,71 unidad USP de endotoxina por mg de Gentamicina.

3.5.6 pH <791 >.

Entre 3,0 y 5,5.

3.5.7 PARTÍCULAS <788>.

Cumple con los requisitos para inyectables de pequeño volumen.

3.5.8 DISOLVENTES RESIDUALES <467>.

Cumple con requisitos

3.5.9 OTROS REQUISITOS.

Cumple con los requisitos de inyectables <1>.

3.5.10 VALORACIÓN.

Proceder como se indica en antibióticos Valoraciones microbiológicas <81>, utilizando un volumen exactamente medido de la inyección diluida

cuantitativamente y en diluciones sucesivas con solución Buffer N^o 3 para producir una dilución de prueba, con una concentración que se supone igual a la dosis media de los estándares (0,1 µg de Gentamicina por mL).

3.6 MICROORGANISMO DE TRABAJO.

3.6.1 *Staphylococcus epidermidis*.

Es una especie bacteriana del género ***Staphylococcus***, consistente en cocos Gram-positivos arreglados en grupos. Es catalasa-positiva, termonucleasa-negativo aunque a veces varía, coagulasa-negativa; y se presenta frecuentemente en la piel de humanos y de animales y en membranas mucosas. ⁽⁵⁾

***Staphylococcus epidermidis*.**

Se caracteriza por ser coagulasa negativo y novobiacina sensible, fue considerado por mucho tiempo como un germen contaminante de cultivos. Sin embargo, ahora se le reconoce como un patógeno importante y es considerado el agente causal de diferentes entidades clínicas, entre ellas: Infecciones urinarias intrahospitalarias, osteomielitis, endocarditis de válvula nativa, bacteremia en pacientes inmunosuprimidos, endoftalmitis después de cirugía ocular, infecciones de dispositivos médicos o cuerpos extraños (catéteres endovenosos, fístulas para hemodiálisis, catéteres de diálisis peritoneal, marcapasos, articulaciones protésicas, injertos vasculares, válvulas cardíacas protésicas e implantes de mama). ⁽⁵⁾

Otra característica importante de esta bacteria es la susceptibilidad antimicrobiana que presenta, ya que el *Staphylococcus epidermidis* ha desarrollado resistencia a la meticilina en forma paralela al desarrollo de resistencia del *Staphylococcus aureus*, pero mostrando tasas mucho más elevadas que esta última, y que ha ido incrementándose de manera importante en los últimos 20 años. Mientras que a inicio de los '80s se indicaban tasas de resistencia a la meticilina del 20%, en 1999 estas llegaron al 80%. ⁽⁵⁾

3.7 VALORACION MICROBIOLOGICA SEGÚN FARMACOPEA USP 30-NF25 <81>.

La actividad (potencia) de antibióticos puede ser demostrado en condiciones adecuadas por su efecto inhibitor sobre los microorganismos. Una reducción en la actividad antimicrobiana también revela los cambios sutiles no demostrables por métodos químicos. En consecuencia, los análisis microbiológicos o biológicos en general siguen siendo actualmente el estándar para disipar dudas con respecto a la posible pérdida de actividad. La Farmacopea de los Estados Unidos (USP) describe este tipo de procedimientos para antibióticos farmacopeicos y para éstos, la valoración microbiológica aún sigue siendo el método de ensayo definitivo.⁽¹¹⁾

3.7.1 MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS.

La USP establece dos métodos generales para la determinación de potencia para los antibióticos.

3.7.2 METODO TURBIDIMÉTRICO.

Se basa en la inhibición del crecimiento de un cultivo microbiano en una solución uniforme del antibiótico de un medio líquido que promueva su rápido crecimiento en ausencia del antibiótico.⁽⁸⁾

3.8 MÉTODO DIFUSIÓN EN PLACA O CILINDRO PLACA.

3.8.1 FUNDAMENTO.

Se basa en la difusión del antibiótico desde un cilindro vertical a través de una capa de agar solidificada 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 del cilindro que contiene una solución del antibiótico.⁽¹¹⁾

3.8.2 METODOLOGÍA GENERAL PARA EL ENSAYO SEGÚN USP30.

Se colocan cantidades medidas de sustancias a ensayar en placas con medio de cultivo sólido inoculado con un microorganismo adecuado. Las placas se incuban para permitir el desarrollo del microorganismo.

Durante la incubación el agente antimicrobiano difunde hacia la zona que lo rodea y establece un gradiente de concentración, alcanzándose la

concentración inhibitoria mínima a cierta distancia. Conforme el microorganismo crece se forma un halo turbio, excepto en la región donde la concentración de la sustancia es por arriba de la concentración inhibitoria mínima; allí es donde se observa una zona de inhibición. (11)

El tamaño de dicha zona queda determinado por la sensibilidad del microorganismo, el tipo de medio de cultivo, las condiciones de incubación, la velocidad de difusión de la sustancia y su concentración. La zona obtenida es una zona clara (halo) de inhibición del crecimiento en torno a los reservorios. La base cuantitativa del ensayo es la relación entre el diámetro de las zonas de inhibición y la concentración de antibiótico. (11)

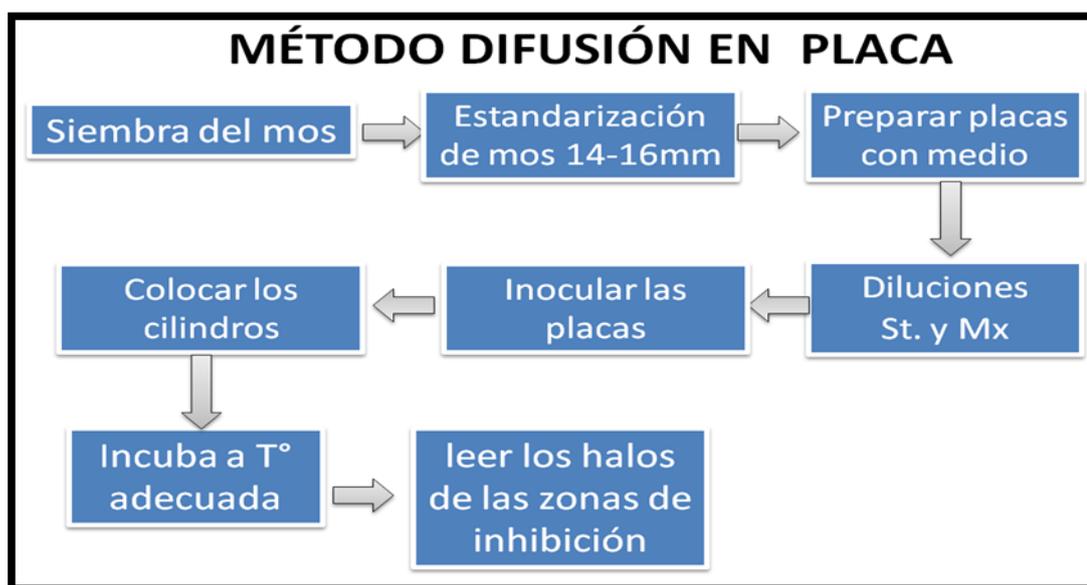


Figura № 4 Esquema de la metodología que establece la USP. (11)

3.8.3 ESPECIFICACIONES DE LA USP 30-NF25 PARA EL MÉTODO DIFUSIÓN EN PLACA O CILINDRO PLACA.

3.8.3.1 MEDIOS, MICROORGANISMOS Y ESTANDAR.

- Seleccionar para cada antibiótico el medio y diluyente adecuado y microorganismo a utilizar. ⁽¹¹⁾
- Preparar el medio agar que en forma líquida e inoculado y homogenizado con una suspensión de microorganismos testigo y se coloca la cantidad de medio especificado para cada antibiótico. ⁽¹¹⁾
- En el día del ensayo, preparar a partir de la solución madre cinco o más diluciones, por lo general, con una diferencia de concentración entre diluciones sucesivas en una proporción de 1:1.25. ⁽¹¹⁾

3.8.3.2 MATERIAL Y CRISTALERIA

- Utilizar cajas de petri de 100 x 20 mm con una capa de agar llamada capa base del medio adecuado. ⁽¹¹⁾
- Utilizar cilindros de acero inoxidable con un diámetro externo de 8mm, diámetro interno de 6mm y 10mm de largo, a intervalos de 60° en un radio de 2.8 cm. ⁽¹¹⁾

3.9 PARÁMETROS DE DESEMPEÑO.

3.9.1 EXACTITUD.

La exactitud de un método analítico es la cercanía de los resultados de pruebas obtenidas por ese método para un valor verdadero, es decir, que expresa la contigüidad de un resultado al valor verdadero, y la capacidad del método analítico para dar los resultados lo más próximo posibles a dicho valor.

Sí la diferencia entre el valor encontrado y el valor verdadero es pequeña, la exactitud es buena. (7)

Estadísticamente suele expresarse por el resultado de realizar un test de “t” de Student para determinar si el valor hallado y el valor considerado como verdadero no difieren significativamente para un grado de probabilidad determinado. (7)

Si t experimental es menor a t de tablas para el riesgo escogido significa que ambos valores no son estadísticamente diferentes, comprobándose que el método analítico tiene la exactitud requerida. En cambio si “ t ” experimental es mayor a t de tablas significa que el método analítico no es exacto y existe un error sistémico. (7)

3.9.2 PRECISIÓN.

Expresa el grado de concordancia entre resultados de pruebas individuales cuando el método es aplicado repetidamente a múltiples muestras de una muestra homogénea, en otras palabras, mide que tan cerca se encuentran los resultados unos de otros. (7)

Indica el grado de reproducibilidad del método analítico bajo condiciones normales de trabajo, es decir la capacidad del método para dar resultados semejantes cuando se aplica repetidamente a una muestra.

La precisión de un método analítico es usualmente expresada por una desviación estándar o una desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones donde la media aritmética es el valor central y la desviación estándar es la dispersión de los resultados. Dentro del término "precisión de un método" se dan tres tipos de estudios: (7)

3.9.2.1 REPETIBILIDAD.

Referida a la precisión del método efectuado en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos aparatos y reactivos, en el curso de la misma serie de análisis efectuados, generalmente en un corto intervalo de tiempo. (7)

Su determinación se efectúa sobre una serie de alícuotas de una muestra homogénea, que se analizan independientemente desde el principio (preparación de la muestra) hasta el final (lectura de resultados) por el mismo analista y el mismo instrumento.

El número de repeticiones del análisis deberá ser superior a cinco y la concentración del analito en la muestra problema suele ser similar a lo declarado. Puede necesitarse utilizar dos concentraciones del analito (alta y baja) o más (alta, media y baja).⁽⁷⁾

3.9.2.2 REPRODUCIBILIDAD.

Medida de la precisión de los resultados de un método analítico efectuado sobre la misma muestra pero en condiciones diferentes. Su ensayo debe estudiar las principales condiciones de variabilidad del método analítico: tiempo (diferentes días), analista e instrumentos. La reproducibilidad global se determina por el coeficiente de variación.⁽⁷⁾

Si se desea estudiar el efecto de cada una de las tres variables por separado (tiempo, analista e instrumentos), deberá realizarse un análisis de varianza. Muchas veces solo es suficiente realizar un ensayo de reproducibilidad teniendo en cuenta únicamente el tiempo.⁽⁷⁾

3.9.2.3 ROBUSTEZ.

Evalúa los efectos de pequeños cambios en las condiciones operacionales del análisis sobre la fiabilidad del método analítico.

Esta se recomienda cuando se precisa un estudio completo de reproducibilidad como en estudios colaborativos y comparativos interlaboratorios. Detecta factores que originan variaciones menores y los que necesitan de una atención especial debido a que dan origen a variaciones significativas. (7)

3.9.3 ESPECIFICIDAD.

Los documentos de la ICH (Comisión internacional de Armonización) definen la especificidad como la habilidad de fijar inequívocamente el analito en presencia de componentes que se puedan creer presentes como impurezas, productos de degradación o componentes matriciales.

Otras autoridades internacionales IUPAC (Internacional Union of Pure and Applied Chemistry) y AOAC (Association of Oficial Analitical Chemistry) prefieren el término "selectividad" y reservan especificidad para procedimientos que son completamente selectivos. Algunos autores diferencian ambos términos y consideran: (7)

- **Selectividad:** capacidad de detectar simultánea o separadamente sustancias químicas diferentes presentas en la misma muestra.

- **Especificidad:** capacidad de detectar el analito sin interferencias de ningún otro compuesto.

3.9.4 LÍMITE DE DETECCIÓN.

Es una característica de las pruebas límite, por otra parte, se considera como la cantidad de analito más baja presente en una muestra, que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones experimentales. (7)

El límite de detección es usualmente expresado como la concentración del analito en la muestra (ppm, %, ppb, etc.).

Para métodos no instrumentales los límites de detección son generalmente determinados por el análisis de muestras de concentraciones conocidas del analito y por el establecimiento del nivel mínimo al cual el analito puede ser detectado confiable. (7)

3.9.5 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.

La cantidad más baja o mínima de analito en una muestra que ha sido determinada con precisión y exactitud aceptable bajo condiciones experimentales establecidas.

El límite de cuantificación se expresa como la concentración del analito en la muestra (<ppm, %, ppb, etc.). Al igual que el límite de detección cuando se

trata de métodos oficiales casi nunca es necesario realizar su determinación.⁽⁷⁾

3.9.6 LINEALIDAD Y RANGO.

La farmacopea la define como la habilidad de obtener resultados de las pruebas de forma directa o por una transformación matemática bien definida, proporcional a la concentración del analito en muestras dentro de un rango dado. De lo anterior se entiende que es la capacidad de un método analítico de obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración de analito en la muestra dentro de un intervalo determinado. Dentro del término linealidad se encuentra implícita la proporcionalidad entre la concentración del analito y la respuesta.⁽⁷⁾

3.10 PARÁMETROS A EVALUAR EN LA INVESTIGACIÓN.

Para demostrar científicamente que la metodología aplicada cumple con las características de desempeño y funcionamiento conforme a los requerimientos de las aplicaciones analíticas establecidas se desarrollaron los siguientes parámetros de desempeño establecidos en el apartado de la Farmacopea de los Estados Unidos apartado <1225>:

- Linealidad,
- Rango,
- Exactitud y
- Precisión.

CAPÍTULO IV
DISEÑO METODOLÓGICO

4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO.

- **Experimental:** se basa en ensayos repetitivos realizados dentro de un laboratorio de análisis.
- **Prospectivo:** los resultados se irán obteniendo a medida se desarrollen los ensayos en un tiempo determinado.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Se recopiló información utilizando Bibliografía Nacional e Internacional, en visita a las siguientes instituciones:

- Biblioteca Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM).
- Biblioteca de la Universidad Nueva San Salvador (UNSSA).
- Corporación Bonima S.A de C.V.
- Internet.

4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO.

4.3.1 UNIVERSO.

El universo de la investigación estará constituido por un lote (08130013) de Gentamicina sulfato de 160mg/2ml constituido por 4.3 millones de unidades elaborado por de Corporación Bonima S.A de S.V.

4.3.2 MUESTRA.

El número de unidades de muestra se tomó a partir de la cantidad a utilizar para desarrollar los diferentes bioensayos. La muestra fue de 186 viales de Gentamicina sulfato de concentración 160mg/2ml.

4.3.3 MUESTREO.

La muestra se recolectó través de un muestreo aleatorio simple, el número de unidades de muestra será tomado a partir de la cantidad utilizada para desarrollar los diferentes bioensayos.

4.3.4 FORMULARIO PARA RECOLECCIÓN DE DATOS.

Para la recolección de los datos obtenidos en los diferentes ensayos que se realizaron durante la investigación se diseñaron los siguientes formularios:

- Recolección de datos línea dosis-respuesta (Ver anexo № 7)
- Recolección de datos curva estándar (Ver anexo № 8)
- Recolección de datos muestras (Ver anexo № 11)
- Recolección de datos para graficas (Ver anexo № 9)

4.4 PARTE EXPERIMENTAL.

4.4.1 ENSAYO DE POTENCIA DE ANTIBIÓTICOS SEGÚN USP 30-NF25.

Se realizó la siembra del microorganismo de prueba (*Staphylococcus epidermidis*), en cinco tubos con agar inclinado antibiótico № 11, se incubó a una temperatura de 32-35° C por un período de 24 horas, posteriormente se adicionó a cada tubo 1 ml de solución salina estéril 0.9 % y perlas de vidrio. Se arrastró el crecimiento del microorganismo y este fue inoculado en una botella de roux con agar antibiótico № 11, la cual fue incubada a la misma temperatura por 24 horas; se arrastró el crecimiento del microorganismo antes obtenido y se incorporó 10 ml de solución salina estéril con pipeta de morh, para luego ser estandarizada en un espectrofotómetro a 580 nm al 25±2% de transmitancia.

Se preparó la solución stock con una concentración de 1 mg/ml, partiendo de un equivalente de 25 mg llevándolo a un balón de 25 ml.

Se prepararon los estándares de la línea dosis-respuesta con una concentración media de 0.1 µg/ml de acuerdo a los que especifica la USP30-NF25 y una diferencia entre cada concentración de 1:1.25.

Cuadro № 1. Tabla para la preparación de estándares para línea dosis respuesta.

Estándar	Alícuota (mL)	Concentración final
A	0.65	0.065 µg/ml
B	0.80	0.080 µg/ml
C	1	0.1 µg/ml
D	1.25	0.125 µg/ml
E	1.55	0.155 µg/ml

Una vez preparados los estándares, se le adicionó 4 ml de medio inoculado (con 0.03 ml de microorganismo por cada 100 ml de medio) a las placas que contenían 21 ml de medio de cultivo antibiótico № 11 y posteriormente se le colocó en la placa de agar 6 cilindros de acero inoxidable, a los cuales se adicionó 200 µL de antibiótico alternando C:A, C:B, C:D y C:E.

Se dejó reposar por una hora y se prosiguió a incubar a una temperatura 32-35° C por un periodo de 16-24 horas.

Se llevó a cabo 3 ensayos para determinar si la concentración establecida por la USP30-NF25 era viable, según las condiciones del laboratorio para proceder a la determinación de los parámetros de desempeño del ensayo de potencia para el análisis de Gentamicina sulfato. Se obtuvo los promedios de cada estándar y de acuerdo a lo establecido por la USP 30-NF25 se buscaba halos de inhibición entre 14-16 mm respecto al estándar medio.

Cuadro № 2. Cuadro de resultados ensayos previos con una concentración media de 0.1 µg/ml (Diámetro de halos en mm)

Estándar	C _A	A	C _B	B	C _D	D	C _E	E
Ensayo 1	10.6	8.7	11.3	11.3	11.7	12.6	11.5	13.4
Ensayo 2	11.3	10.2	11.4	11.9	11.4	12.5	11.1	13.8
Ensayo 3	9.9	7.0	9.1	7.7	9.4	9.8	9.6	11.0

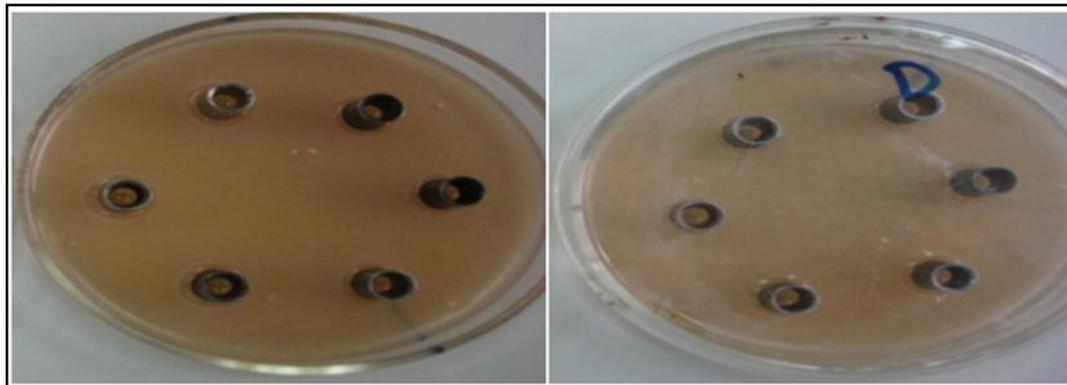


Figura № 5. Halos de inhibición según la concentración establecida por la USP30-NF25

Conforme a los resultados obtenidos en los 3 ensayos utilizando la concentración estipulada por la USP 30-NF25, no alcanzando los halos de inhibición con un diámetro entre 14-16 mm, los cuales son estipulados por la Farmacopea de los Estados Unidos (respecto al estándar medio), lecturas difíciles de tomar por el tamaño de los halos y las limitantes del instrumento de medición, debido que es manual. No puede ser utilizado el ensayo de potencia para el análisis de Gentamicina sulfato de acuerdo a las condiciones en que fue sometido el ensayo.

Además en el ensayo 3 los halos de inhibición para el estándar "A" son un promedio de 7 mm, lo que indica que no se alcanzó la concentración mínima inhibitoria, ya que el diámetro que genera el cilindro en la placa es de 7mm; es decir, que no hay halo de inhibición, consecuentemente se toma como invalido los datos arrojados por el estándar "A" y queda anulado el ensayo.

Por lo tanto, debido a que con la concentración estipulada por la USP30-NF25 no se alcanzan halos de inhibición entre 14-16 mm según las

condiciones en que se desarrollo el ensayo, se procedió a aumentar la concentración de los estándares de 0.5 en 0.5 $\mu\text{g/ml}$ respecto al estándar "C".

Se prosiguió el desarrollo de ensayos aumentando la concentración de los estándares en un rango de 0.5 a 3.0 $\mu\text{g/ml}$ y a 1 mg/ml hasta obtener una concentración que arrojara halos de inhibición entre el rango de 14-16 mm.

Cuadro № 3. Cuadro de resultados ensayos previos para la determinación de la concentración.

Ensayo 1	C	A	B	D	E
0.5 $\mu\text{g/ml}$	10.9 mm	8.8 mm	9.7 mm	11.3 mm	12.7 mm
1.0 $\mu\text{g/ml}$	13.4 mm	11.7 mm	12.2 mm	14.1 mm	15.0 mm
1.5 $\mu\text{g/ml}$	13.5 mm	10.9 mm	12.5 mm	14.6 mm	15.6 mm
2.0 $\mu\text{g/ml}$	14.1 mm	11.5 mm	12.9 mm	15.3 mm	15.9 mm
2.5 $\mu\text{g/ml}$	15.0 mm	12.1 mm	13.8 mm	16.0 mm	17.2 mm
3.0 $\mu\text{g/ml}$	15.9 mm	13.8 mm	14.9 mm	17.5 mm	18.8 mm
1.0 mg/ml	24.2 mm	25.7 mm	26.3 mm	26.8 mm	27.6 mm

Una vez realizados los ensayos, se observó aquellas concentraciones en los cuales los halos de inhibición de "C" estuvieran dentro del rango entre 14-16 mm; las concentraciones de 2, 2.5 y 3,0 $\mu\text{g/ml}$ las mediciones de los halos de del estándar "C" se encuentran dentro del rango estipulado por la USP30-NF25 con las condiciones desarrolladas en el laboratorio.

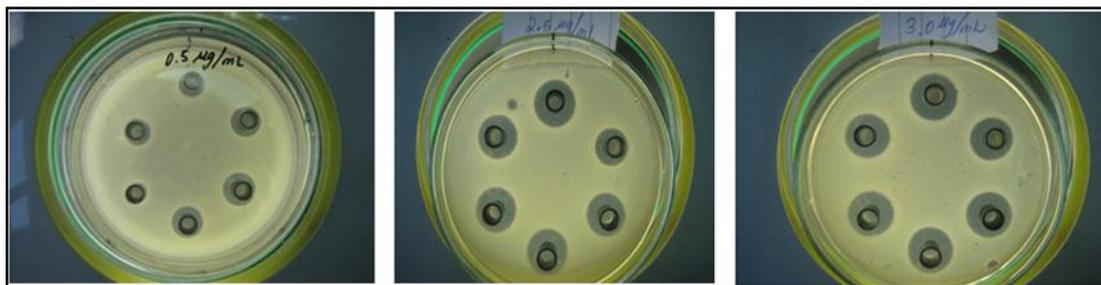


Figura № 6. Halos de inhibición según la concentración establecida por la USP30-NF25

Se seleccionó la concentración de 3.0 µg/ml, debido que los halos de inhibición son más grandes, consecuentemente, las lecturas de los halos resultan más sencillas para el analista; por lo tanto, representan un menor error en sus lecturas.

Luego de establecer la concentración media se realizó 2 corridas para verificar que los resultados sean congruentes a esta concentración y a las condiciones establecidas (utilizando el mismo equipo, cepas salvajes y condiciones ambientales del laboratorio).

Cuadro № 4. Cuadro de resultados de ensayos previos con una concentración de 3.0 µg/ml. (Halos de inhibición en mm)

Estándar	C _A	A	C _B	B	C _D	D	C _E	E
Ensayo 1	15.4	13.5	15.4	14.4	15.2	16.4	15.3	17.7
Ensayo 2	16.3	14.3	16.1	15.2	16.3	16.9	16.2	18.1

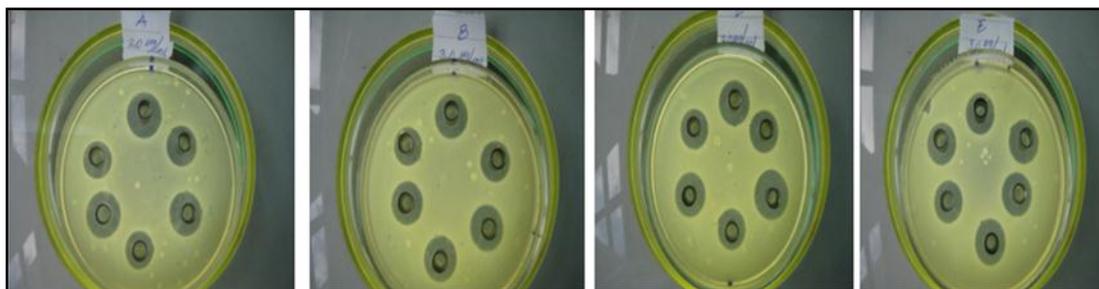


Figura № 7. Halos de inhibición según la concentración establecida por la USP30-NF25

Los ensayos se realizan con la misma concentración del microorganismo, el mismo tiempo de incubación y el mismo día pero diferentes analistas.

Existe una diferencia marcada en los halos de inhibición, sin embargo, se conservan la correlación de los datos, debido a que existe un coeficiente de variación entre cada analista.

Se establece de acuerdo a los resultados arrojados por los ensayos de prueba que la concentración media de 3.0 $\mu\text{g/ml}$ mantiene una relación entre la concentración y los diámetros de los halos, es decir, "A" es menor que "B", "A" y "B" menores que "C", "D" mayor que "A", "B" y "C" y "E" mayor que todos juntos.

Al haber experimentado y establecido que la concentración media de 3.0 $\mu\text{g/ml}$ funciona para el ensayo de potencia para el análisis de Gentamicina sulfato, se prosiguió al desarrollo detallado de la técnica de potencia para el análisis de Gentamicina sulfato solución inyectable 160 mg/ 2 ml.

4.4.2 TÉCNICA PARA EL ENSAYO DE POTENCIA PARA GENTAMICINA SULFATO SOLUCIÓN INYECTABLE 160 mg/2mL.

4.4.2.1 PREPARACIÓN DEL INOCULO.

Transferir de un cultivo bacteriano de *Staphylococcus epidermidis* previamente tipificado (cultivo #1), tomar una asada proveniente de una colonia aislada, sembrar mediante estriado en 5 tubos de rosca conteniendo medio de cultivo antibiótico Nº 11 estéril inclinado. Incubar por 24 horas a una temperatura de 32-35°C.

Desinfectar la parte externa de cada tubo con crecimiento bacteriano del microorganismo de prueba con alcohol isopropílico.

Arrastrar el crecimiento obtenido con la ayuda de 2 perlas de vidrio estériles y 1 ml de solución salina estéril al 0.9 %; inclinar el tubo en 180 grados para deslizar las perlas de vidrio y realizar movimientos controlados para desprender el crecimiento.

Desinfectar las parte externa de una botella de roux con medio de cultivo antibiótico Nº11 (250 ml), y transferir el crecimiento obtenido de los 5 tubos con el microorganismo de prueba (suspensión #1) con sus respectivas perlas de vidrio, extender con movimientos suaves el microorganismo en toda la superficie de la botella de roux. Incubar por 24 horas a una temperatura de 32-35° C.

Desinfectar las parte externa de la botella de roux; agregar 10 ml de solución salina estéril al 0.9 %, y deslizar las perlas de ebullición sobre el cultivo bacteriano, hasta remover todo el crecimiento del microorganismo. Transferir la suspensión y las perlas de vidrio a un tubo de rosca o un frasco estéril adecuado, previamente desinfectado de su superficie externa, proceder a etiquetar como suspensión madre. La suspensión madre debe ser almacenada a temperatura de refrigeración entre 4-10° C, por un tiempo máximo de 7 días.

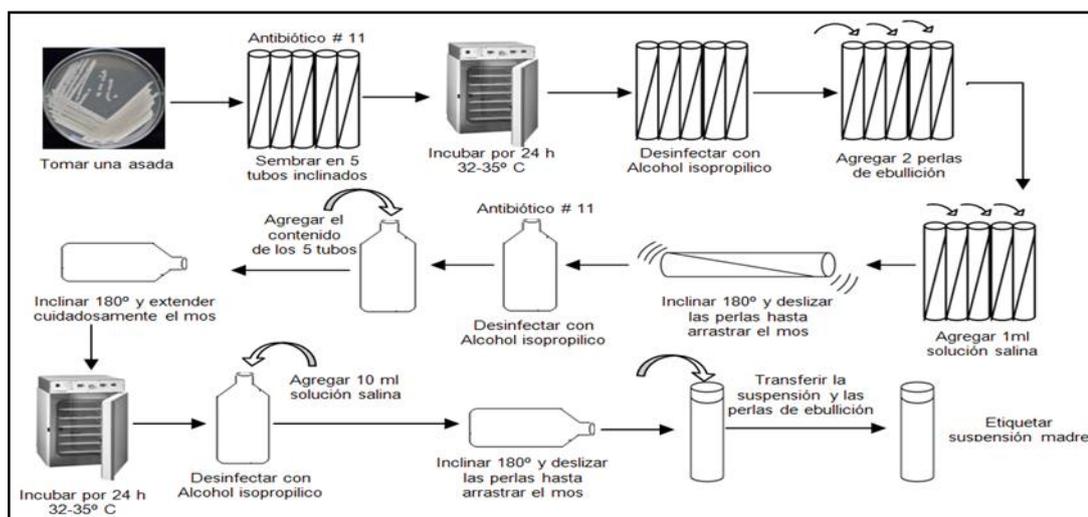


Figura № 8. Preparación del microorganismo de prueba.

4.4.2.2 ESTANDARIZACIÓN DEL INOCULO.

Agitar cuidadosamente la suspensión madre y transferir con una pipeta estéril 1 ml de la suspensión madre a un tubo de rosca con 14 ml de solución salina estéril al 0.9%. (Dilución 1:14)

Agitar la dilución de la suspensión y leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 580nm usando como blanco solución salina estéril al

0.9%; la concentración de la dilución obtenida debe ser $25\pm 2\%$ de transmitancia.

Si la concentración es superior a la deseada ($25\pm 2\%$), adicionar a la suspensión madre solución salina estéril al 0.9% de mililitro en mililitro para diluirla, repetir la dilución 1:14 y leer en el espectrofotómetro, hasta que la dilución de la suspensión contenga una concentración del $25\pm 2\%$ de transmitancia.

Utilizar la concentración madre y descartar las suspensiones diluidas

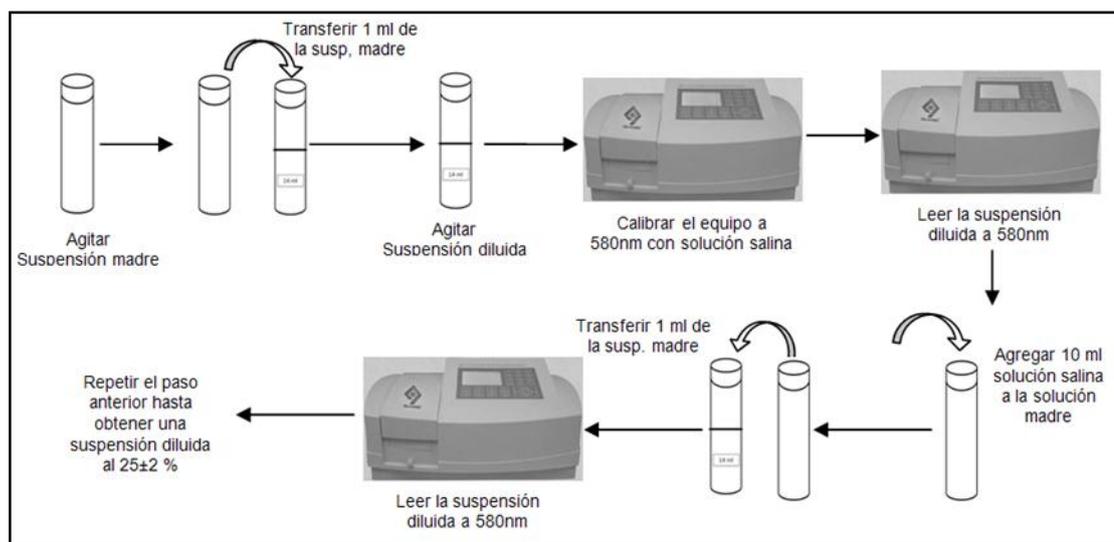


Figura № 9 .Estandarización del microorganismo de prueba.

4.4.2.3 PREPARACIÓN DE LA CAPA INOCULO.

A 21 placas de Petri 100 x 20 mm estériles agregar 21 ml de agar antibiótico № 11, dejar solidificar hasta formar una capa lisa y uniforme (capa base).

A continuación, fundir 100 ml de medio antibiótico № 11, colocarlo en baño maría a una temperatura de 45°C , cuando el medio este ambientado a

dicha temperatura, inocular el medio con 0.03 ml de la suspensión madre del microorganismo de prueba previamente estandarizada a 25 ± 2 %T, homogenizar (capa inoculo), seguidamente verter 4 ml del medio inoculado en cada una de las 21 placas de Petri conteniendo la capa base con la ayuda de una pipeta morh de 10 ml despuntada, realizando movimientos circulares para extender completamente la capa inoculo, y posteriormente dejar solidificar a temperatura ambiente hasta formar una capa lisa y uniforme.

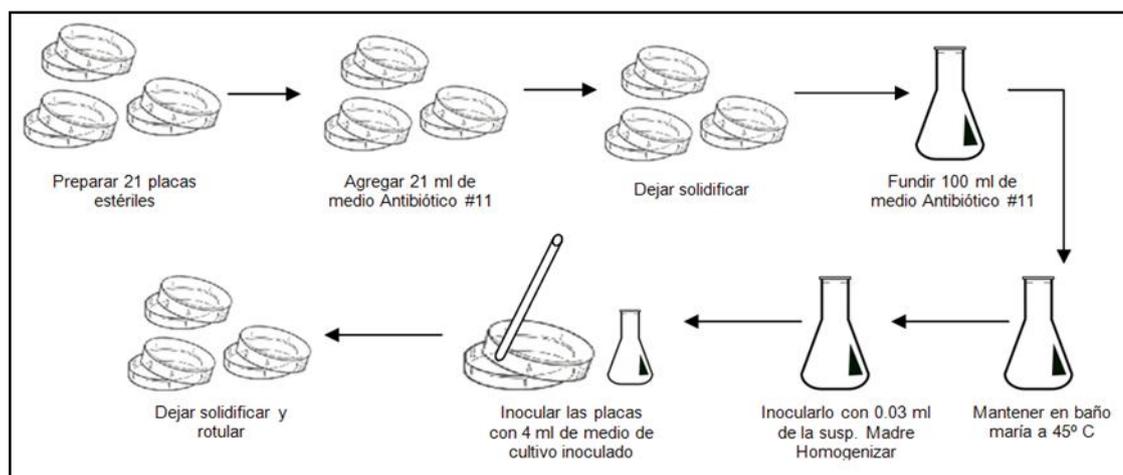


Figura № 10. Preparación de la capa inoculo

4.4.2.4 PREPARACIÓN DE LOS ESTANDARES.

4.4.2.4.1 PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN STOCK.

Pesar el equivalente a 25 mg de estándar de Gentamicina en una balanza analítica; transferir el estándar a un balón volumétrico de 25 ml, lavar el porta muestra con 5 ml de buffer fosfato pH 8 (B.3), agitar hasta solubilizar llevar a volumen final de 25 ml con buffer fosfato pH 8 (B.3). Donde se alcanza una concentración de 1 mg/ml.

4.4.2.4.2 PREPARACIÓN DE LA LINEA DOSIS-RESPUESTA.

4.4.2.4.2.1 PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR “A”.

Transferir con una microbureta de 5 ml, una alícuota de 1.92 ml de solución stock del estándar de Gentamicina sulfato a un balón volumétrico de 10ml, llevar a volumen con buffer fosfato pH 8 (B.3), agitar y homogenizar; tomar una alícuota de 1 ml de esta solución con una pipeta volumétrica y transferirlo a un balón de 100 ml y llevar a volumen con buffer fosfato pH 8 (B.3). Rotular el balón estándar A con una concentración 1.92 µg/ml.

4.4.2.4.2.2 PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR “B”.

Transferir con una microbureta de 5 ml, una alícuota de 2.40 ml de solución stock del estándar de Gentamicina sulfato a un balón volumétrico de 10 ml, llevar a volumen con buffer fosfato pH 8 (B.3), agitar y homogenizar; tomar una alícuota de 1 ml de esta solución con una pipeta volumétrica y transferirlo a un balón de 100 ml y llevar a volumen con buffer fosfato pH 8 (B.3). Rotular el balón estándar A con una concentración 2.40 µg/ml.

4.4.2.4.2.3 PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR “C”.

Transferir con una microbureta de 5 ml, una alícuota de 3.0 ml de solución stock del estándar de Gentamicina sulfato a un balón volumétrico de 10 ml, llevar a volumen con buffer fosfato pH 8 (B.3), agitar y homogenizar; tomar una alícuota de 1 ml de esta solución con una pipeta volumétrica y transferirlo a un balón de 100 ml y llevar a volumen con buffer fosfato pH 8 (B.3). Rotular el balón estándar A con una concentración 3.0 µg/ml.

4.4.2.4.2.4 PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR “D”.

Transferir con una microbureta de 5 ml, una alícuota de 3.76 ml de solución stock del estándar de Gentamicina sulfato a un balón volumétrico de 10 ml, llevar a volumen con buffer fosfato pH 8 (B.3), agitar y homogenizar; tomar una alícuota de 1 ml de esta solución con una pipeta volumétrica y transferirlo a un balón de 100 ml y llevar a volumen con buffer fosfato pH 8 (B.3). Rotular el balón estándar A con una concentración 3.76 µg/ml.

4.4.2.4.2.5 PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR “E”.

Transferir con una microbureta de 5 ml, una alícuota de 4.70 ml de solución stock del estándar de Gentamicina sulfato a un balón volumétrico de 10 ml, llevar a volumen con buffer fosfato pH 8 (B.3), agitar y homogenizar; tomar una alícuota de 1 ml de esta solución con una pipeta volumétrica y transferirlo a un balón de 100 ml y llevar a volumen con buffer fosfato pH 8 (B.3). Rotular el balón estándar A con una concentración 4.70 µg/ml.

4.4.2.4.3 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.

VIALES DE SULFATO DE GENTAMICINA: Colocar el contenido de 10 viales de Gentamicina de 160 mg/2ml en un erlenmayer con rosca con capacidad de 50 ml previamente esterilizado, homogenizar con un agitador de vidrio, tomar con una pipeta volumétrica 3 ml de muestra de Gentamicina sulfato (equivalente a 240 mg de Gentamicina) colocarlos en un balón volumétrico de 200 ml (Dilución Nº1), llevar a volumen con la solución buffer fosfato pH 8 (B.3) y homogenizar; tomar 5ml de la dilución Nº1 y transferirlos

a un balón volumétrico de 200 ml (Dilución №2), aforar con solución buffer fosfato pH 8 (B.3) y homogenizar.

Luego tomar nuevamente 1 ml, de la solución №2 transferirlo a un balón volumétrico de 10 ml, aforar con solución buffer fosfato pH 8 (B.3) y homogenizar. Alcanzando una concentración final de 3.0 µg/ml.

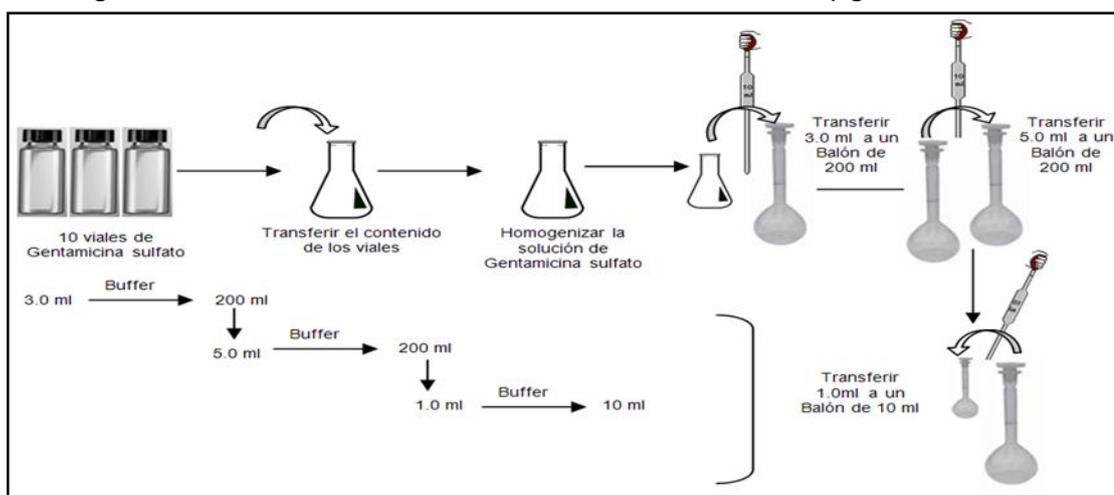


Figura №11. Preparación de la muestra a una de concentración de 3.0µg/ml.

4.4.2.5 COLOCACIÓN Y LLENADO DE CILINDROS.

Para el ensayo se utilizan 3 placas de petri por cada concentración de la línea dosis-respuesta y 9 para la muestra (muestra por triplicado).

Colocar 6 cilindros de acero inoxidable previamente calibrados por placa en intervalos de 60° en un radio de 2.8 cm, intercalar el estándar C con cada uno de las concentraciones A,B,D,E y la muestra. Inocular los cilindros con una pipeta monocal manual con un volumen de 200 µL, respectivamente según las concentraciones de la curva de calibración A,B,D,E y la muestra, reposar las placas por un periodo de tiempo de una hora.

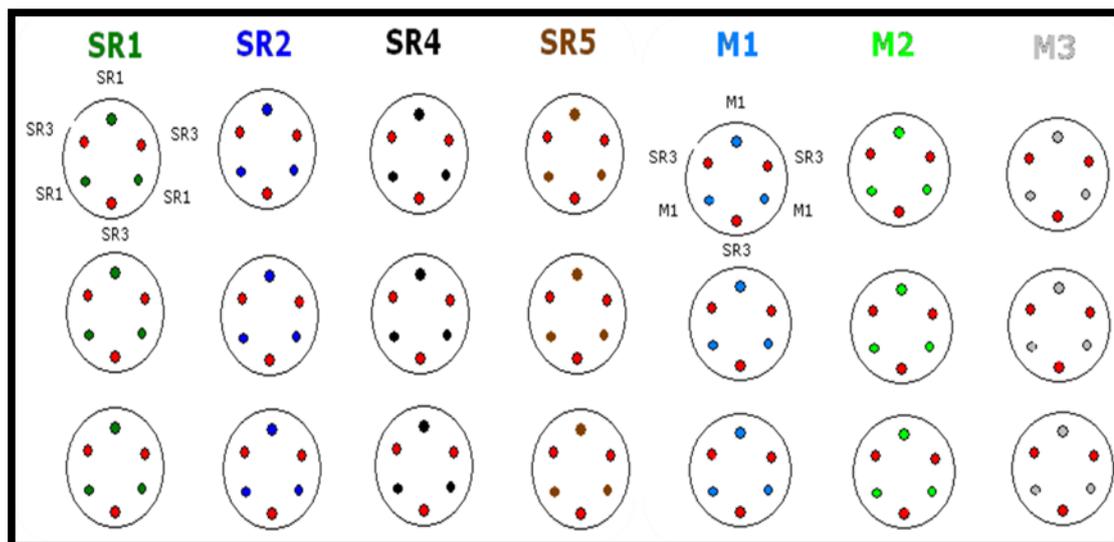


Figura № 12. Colocación y llenado de los cilindros en las placas. Donde: SR1= estándar A, SR2= estándar B, SR4= estándar D, SR5= estándar E, SR3= estándar C (color rojo).

4.4.2.6 INCUBACIÓN DE LAS PLACAS.

Colocar las placas de petri inoculadas en la bandeja de la incubadora en bloque de 3 placas como máximo. Incubar por 16-24 horas a temperatura de 32-35° C.

4.4.2.7 LECTURA DE HALOS DE INHIBICIÓN.

Remover los cilindros, medir y documentar los diámetros de cada una de las zonas de inhibición obtenidas, con la ayuda de un pie de rey.

Procesar los datos obtenidos para realizar la línea dosis-respuesta para la determinación de la concentración de cada muestra interpolándola en la grafica.

4.4.2.8 CÁLCULOS.

Paso 1: Después del periodo de incubación y de medir los halos de inhibición, promediar los diámetros de los halos de las concentraciones de la línea dosis-respuesta y de la concentración media de referencia. (Ver anexo №8)

Paso 2: Corregir el diámetro de cada concentración con el promedio de (C graficado) (concentración media de referencia) así: (Ver anexo № 9)

$$(\bar{X}_C - \bar{X}_A) + A = A \text{ corregido}$$

$$(\bar{X}_C - \bar{X}_D) + D = D \text{ corregido}$$

$$(\bar{X}_C - \bar{X}_B) + B = B \text{ corregido}$$

$$(\bar{X}_C - \bar{X}_E) + E = E \text{ corregido}$$

Donde:

X_C es el promedio de los halos de la sustancia de referencia (gran promedio graficados).

$X_{A,B,D}$ y E es el promedio de la sustancia de referencia en cada uno de los puntos de la línea dosis respuesta.

A,B,D y E es el promedio de los halos en los diferentes puntos de la línea dosis respuesta.

Paso 3: Utilizando los valores corregidos, determinar la zona máxima y mínima de los diámetros con las formulas: (Ver anexo № 9)

$$H = \frac{3e + 2d + c - a}{5} \qquad L = \frac{3a + 2b + c - e}{5}$$

Paso 4: Graficar en papel semilogarítmico de un ciclo los valores de H y L. trazar la línea dosis-respuesta y encontrar el promedio del punto central en la gráfica (C graficado). (Ver anexo № 10)

Paso 5: Determinar los promedios de las muestras y el estándar C de cada una de ellas y sacar la diferencia así: $(\bar{X}_{mx} - \bar{X}_{st})$ (Ver anexo № 11)

Paso 6: Corregir los diámetros de los halos de la muestra para interpolar en la línea dosis-respuesta así: (Ver anexo № 11)

$$C_{\text{corregido}} + (\bar{X}_{mx} - \bar{X}_{st})$$

Donde:

$C_{\text{corregido}}$ equivale a C graficado

Paso 7: La concentración obtenida de interpolar la muestra se multiplica por el factor de dilución, para encontrar la verdadera concentración. (Ver anexo № 11)

4.4.3 EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE DESEMPEÑO ESTABLECIDOS POR LA FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS.

Los parámetros que se realizaron de acuerdo a la Farmacopea para producto terminado son: Linealidad, Rango, Exactitud, Precisión.

4.4.3.1 PASOS PREVIOS A LA EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESEMPEÑO.

Pasos que fueron necesarios para garantizar que el material, medios de cultivo y equipo no fueran una causa de interferencia en los resultados arrojados en el laboratorio.

4.4.3.1.1 CALIBRACIÓN DEL EQUIPO.

- MICROPIPETA, PIE DE REY, TERMÓMETRO Y BALANZA ANALÍTICA.

Se llevaron los instrumentos: Micropipeta monocanal, Pie de rey, Termómetro, Balanza analítica al Laboratorio de Metrología Nacional Legal (LMNL), donde fueron calibrados cada uno de ellos y se recibió los certificados de calidad de cada equipo.

Cuadro № 5. Datos obtenidos de la calibración del equipo utilizado.

Micropipeta monocal	V = (0,200 5 ± 0,000 2) ml; (200,507 4 ± 0,238 7) ml a la temperatura de 20 °C		
Pie de rey	Indicación mm	Corrección mm	
	0,00	0,00	
	1,04	0,00	
	1,800	0,00	
	10,00	0,00	
	50,00	0,00	
	60,00	0,00	
	75,00	0,00	
99,99	0,01		
Termómetro	Indicación ° C	Corrección ° C	
	32	0.5	
	35	0.1	
	45	0.3	
Balanza analítica	Ecuaciones		
	CL = a ₀ + a ₁ L + a ₂ L ² + a ₃ L ³ + a ₄ L ⁴ + a ₅ L ⁵ (Ec.1)		
	UL = b ₀ + b ₁ L + b ₂ L ² + b ₃ L ³ + b ₄ L ⁴ + b ₅ L ⁵ (Ec.2)		
	Coeficiente de ajuste		
		Corrección	Incertidumbre (K=2)
	a ₀	-0.000091753768	b ₀ 0.000058785843
	a ₁	-0.000015702021	b ₁ -0.000017155927
a ₂	-0.001649104862	b ₂ 0.000269956846	
a ₃	0.011046533265	b ₃ -0.000997782647	
a ₄	-0.022265413493	b ₄ 0.001386453937	
a ₅	0.013144354474	b ₅ -0.000641732732	

- CILINDROS DE ACERO INOXIDABLE

Se tomaron las medidas de cada una de los 234 cilindros que se utilizaron en los ensayo con ayuda de un pie de rey donde debían de presentar las siguientes medidas diámetro externo de 8 mm, diámetro interno de 6 mm y 10 mm de largo. Reportándose un cilindro fuera de las especificaciones el cual no se utilizo durante los ensayos.

4.4.3.1.2 CALIFICACIÓN DEL EQUIPO.

Este proceso fue necesario para la determinación de la esterilidad del medio de cultivo y las placas de Petri utilizados en cada ensayo, para garantizar la ausencia de contaminación accidental que pudiera interferir en los ensayos de potencia a realizar.

-AUTOCLAVE: se colocaron tres bioindicadores de *Bacillus stearothermophilus* en cada ciclo de esterilización durante tres ciclos consecutivos de esterilización, después del proceso de esterilización se quebró la parte superior del vial y la tira se puso en contacto con el medio de cultivo y estos se incubaron a una temperatura de 56° C por 24 horas, no presentando un viraje de color de morado a amarillo por lo que se considera conforme

- ESTUFA: se colocaron tres tiras de papel impregnadas de *Bacillus subtilis* en cada ciclo de esterilización por tres ciclos y éstas se dejaron por espacio de 10 minutos con el objetivo de determinar el tiempo de muerte del microorganismo utilizado como indicador, luego las tira de papel en un tubo con rosca con caldo nutritivo y se ubicó en la incubadora a una temperatura de 32-35° C por 24 horas, se observó que el caldo nutritivo no presentó turbidez por lo que se consideró conforme esta prueba.

- **INCUBADORA:** Se colocó un termómetro en cada nivel de la incubadora; realizando por 15 días un muestro de la temperatura de la incubadora en los dos niveles tomando dos puntos durante el día uno por la mañana y el otro por la tarde, aproximadamente seis horas de diferencia. Reportando una temperatura estable durante todo el muestreo de temperatura.

4.4.3.1.3 CONTROL DE MEDIO DE CULTIVO.

Se realizó la promoción de crecimiento para determinar si el medio cumple con los requerimientos nutricionales para que se desarrolle *Staphylococcus epidermidis*.

- **SUSPENSIÓN PATRÓN:** En un tubo se agregó 0.1ml de cloruro de bario al 1% y 9.9 ml de ácido sulfúrico 1%, se leyó la transmitancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 578nm utilizando como blanco agua destilada reportando una transmitancia de 59.1%.

- **SUSPENSIÓN MADRE:** Del cultivo de *Staphylococcus epidermidis* en agar nutritivo incubado a una temperatura de 32-35° C por 24 horas, se arrastró el microorganismo con 4 perlas de vidrio y 5 ml de solución salina 0.9% estéril y se transfirió la suspensión a un tubo con rosca estéril. En un tubo con 9 ml de solución salina al 0.9%, se agregó con una pipeta estéril la suspensión del microorganismo hasta formar una suspensión de igual turbidez que patrón 1 de Macfarlán; se realizó la lectura en el espectrofotómetro a la misma longitud (578nm). Se le siguió agregando

microorganismo hasta que presentó una transmitancia de 59.4% logrando una transmitancia similar a la del patrón de Macfarlán.

- **DILUCIONES:** A partir de la suspensión madre (*Staphylococcus epidermidis* 59.4%) se realizaron 10 diluciones decimales (1:9). Del tubo madre se tomó 1 ml de la suspensión en 9 ml de solución salina 0.9%, del tubo 1 se agregó 1 ml de suspensión al tubo 2 con 9 ml de solución salina 0.9%, del tubo 2 se agregó 1 ml de suspensión al tubo 3 con 9 ml de solución salina 0.9%, hasta llegar al tubo 10.

- **DETERMINACIÓN DE LAS UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS EN CADA SUSPENSIÓN.**

Se colocaron 20 ml de medio nutritivo en placas de petri, se adicionó por duplicado 0.1 ml de la suspensión del tubo 5 con una asa estéril posteriormente se extendió la suspensión por toda la placa con una asa en anillo, se trazó una línea imaginaria en el centro para dispersar el microorganismo, se extendió en forma de cuadrícula hasta que se cubrió todo la superficie de la placa, de igual para los tubos 6, 7, 8, 9 y 10.

Se incubaron las placas a una temperatura de 32-35 ° C por 24 horas; se realizó el conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC) en un contador de colonias reportando como UFC/ 0.1 ml.

Cuadro № 6.Resultados de UFC de cada dilución realizada en agar nutritivo.

DILUCIÓN	Placa # 1 UFC/0.1ml	Placa # 2 UFC/0.1ml	Total de UFC/0.1ml
1×10^{-6}	204	221	212.5
1×10^{-7}	31	27	29
1×10^{-8}	6	4	5
1×10^{-9}	-	-	-
1×10^{-10}	-	-	-

- PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO.

De la dilución que se obtuvo un recuento de 29 UFC/0.1ml (1×10^{-7}), se inocularon 0.1 ml en placas de petri con medio antibiótico № 11 previamente solidificado y se extendió con una asa la suspensión por toda la placa. Con una asa en anillo se trazó una línea imaginaria en el centro para dispersar el microorganismo, se extendió en forma de cuadrícula hasta que se cubrió todo la superficie de la placa, dicho procedimiento se realizó por duplicado. Incubar a una temperatura de 32-35 ° C por 24 horas y posteriormente se realizó el conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC) en un contador de colonias reportando un promedio de 29 UFC/0.1ml en el medio de prueba.

- CÁLCULO DE FACTOR DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO.

FPC= Promedio de UFC del medio antibiótico №11 (Prueba)

Promedio de UFC del medio nutritivo (Control)

FPC= 29/29 UFC/0.1ml = 1.0

Conforme a los resultado del análisis del medio de prueba, el medio antibiótico №11 posee un FPC de 1, por lo tanto tiene los requerimientos nutricionales óptimos para el microorganismo se reproduzca en dicho medio ya que el límite del FPC para medios selectivos debe ser menor de 2.

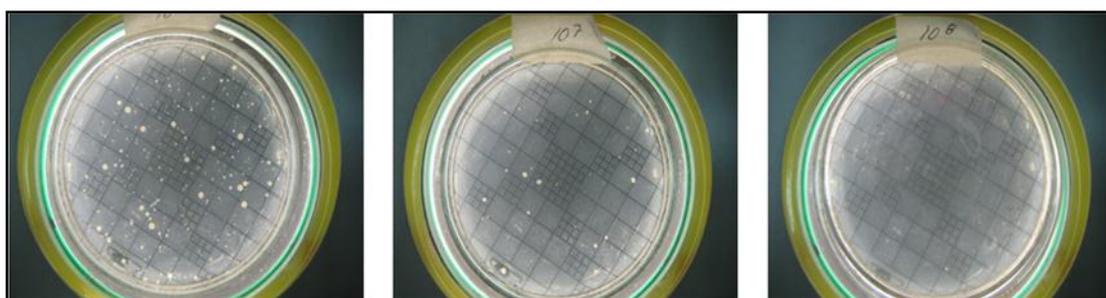


Figura № 13. Recuento en placa de las diluciones para determinar el CPC

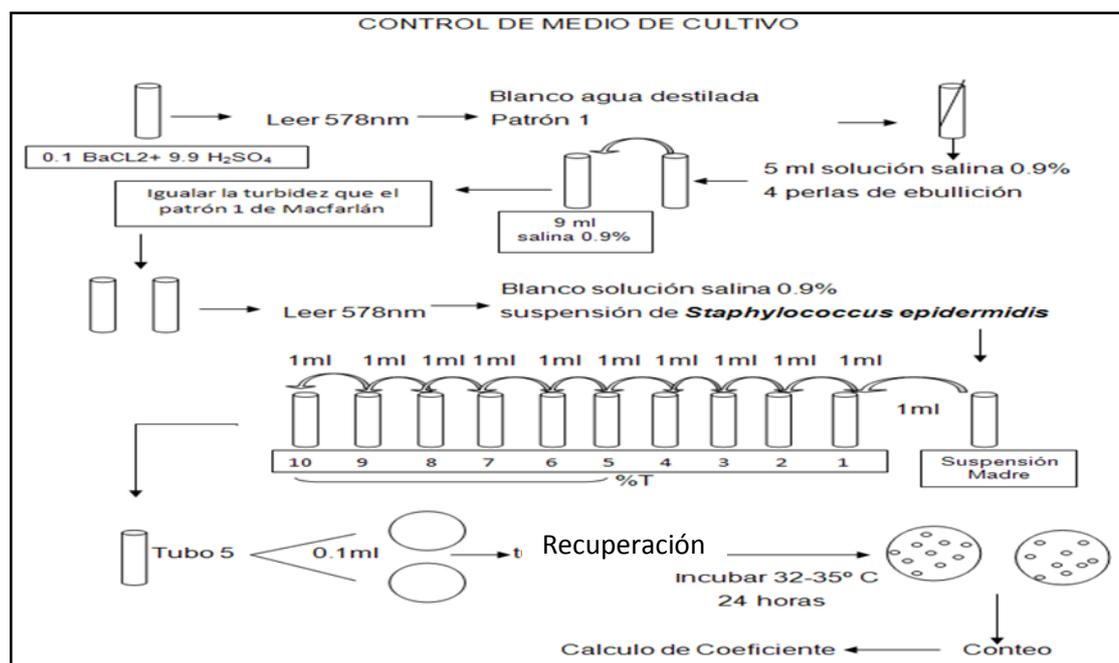


Figura № 14. Diagrama para determinar el CPC

4.4.3.1.4 TIPIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO DE PRUEBA.

- MEDIO DE CULTIVO AGAR SAL MANITOL.

Se preparó 2 placas de petri con medio de cultivo agar sal manitol, en una placa se sembró *Staphylococcus epidermidis* y en la otra *Staphylococcus aureus* y se rotularon respectivamente cada placa. El como el *Staphylococcus epidermidis* no fermenta el manitol se visualizan como colonias blancas lisas, convexas, medianas y brillantes. Mientras las colonias de *Staphylococcus aureus* fermentan el manitol y se visualizaron de color amarillo redondeadas lisas, convexas, medianas y brillantes, demás, se observa un viraje en el color del medio de cultivo de rosado a amarillo

Las colonias blancas se sembraron en 5 tubos con agar nutritivo inclinado y se incubaron a una temperatura de 32-35° C. A un tubo se le realizó tinción de Gram y la prueba de coagulasa.

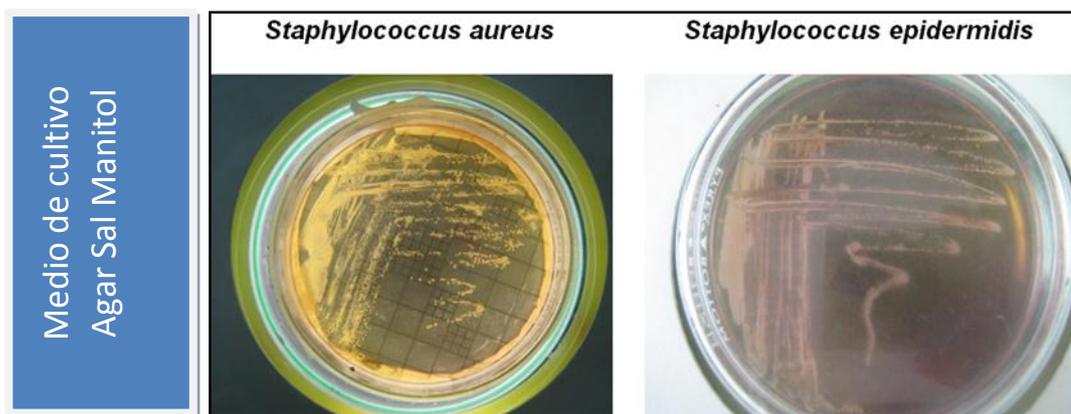


Figura
 №15. Colonias de *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*

- TINCIÓN AL GRAM

Con la ayuda de un mechero, se flameó una asa bacteriológica y se esperó que se enfriara; se tomó de un cultivo bacteriano aislado de *Staphylococcus epidermidis* una asada y se le agregó una gota de solución salina estéril al 0.9%, se extendió el microorganismo sobre la superficie del portaobjeto dejándose secar a temperatura ambiente aproximadamente cinco minutos, posteriormente se fijo la muestra con calor flameando 3 veces el portaobjeto con un mechero.

Se colocó el portaobjeto en el equipo de tinción y se agregaron cinco gotas de cristal violeta o violeta de genciana, se espero por un minuto. Después se lavo el portaobjeto con agua destilada.

Posteriormente se agregaron cinco gotas del solución de lugol (I_2/KI), y se dejo reposar la muestra por 1 minuto, se lavo la muestra con agua destilada nuevamente; se lavo el porta-objeto con alcohol-acetona hasta que ya no desprenda mas color y luego se lavó con agua destilada.

Se adicionó 5 gotas de safranina o fucsina básica esperando un minuto y se lavo nuevamente con agua destilada.

Se observó al microscopio óptico utilizando el objetivo 100X con aceite de inmersión, observándose cocos Gram-positivos (tinción de color morado) agrupados en forma de racimos dando el resultado conforme.

- CATALASA.

Se recogió del centro de una colonia de *Staphylococcus epidermidis* de 18-24 horas y se colocó sobre un portaobjetos limpio de vidrio, posteriormente se agregó con un gotero una gota de H₂O₂ al 30% sobre el microorganismo sin mezclarlo con el cultivo, se observó la formación inmediata de burbujas (resultado conforme).

- COAGULASA.

Se colocó en 2 tubos 1 ml de plasma humano y una asada de un cultivo bacteriano aislado de *Staphylococcus epidermidis* y en el otro *Staphylococcus aureus*. Se rotuló los tubos respectivamente sin agitar. Incubar los tubos a una temperatura de 32-35° C por 24 horas. No apareció la formación de un coágulo por lo tanto se tomó como resultado conforme.

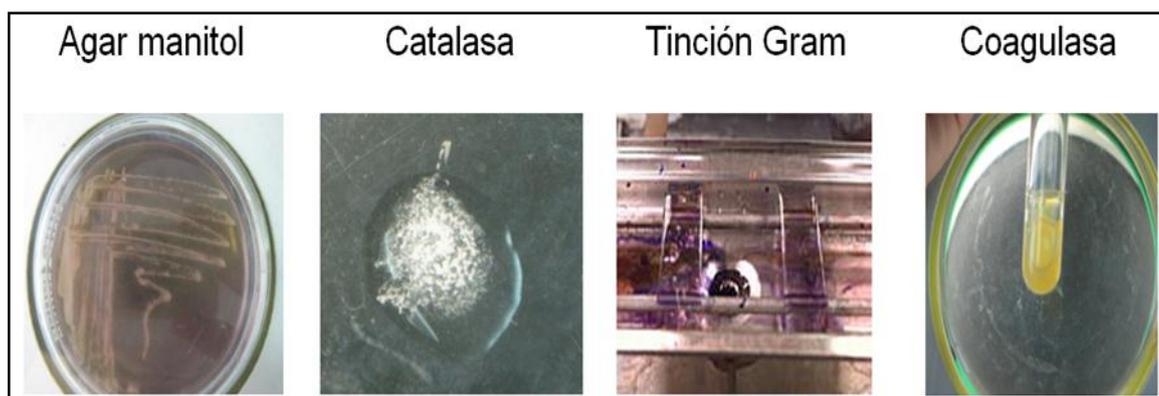


Figura № 16. Resultados de tipificación del *Staphylococcus epidermidis*

4.4.3.2 PARÁMETROS DE DESEMPEÑO.

4.4.3.2.1 LINEALIDAD Y RANGO.

Ambos parámetros fueron evaluados al mismo tiempo ya que se encuentran en estrecha relación. Para determinar la linealidad se utilizó un rango de concentraciones de 75, 100 y 125%.

- PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN STOCK.

Se pesó en una balanza analítica 50 mg de estándar de Gentamicina sulfato USP y se colocó en una estufa a una temperatura de 110° C por 3.5 horas; posteriormente se ambientó en un desecador por 15 minutos.

Se pesó en una balanza analítica el equivalente a 25mg de estándar de Gentamicina, se transfirió el estándar a un balón volumétrico de 25 ml, se lavó el porta muestra con 5 ml de buffer fosfato pH 8 (B.3), se agitó hasta solubilizar llevar a volumen final de 25 ml con buffer fosfato pH 8 (B.3) y se homogenizo la solución stock.

- PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES.

Se prepararon los puntos de la línea dosis-respuesta A,B,C,D,E tomando alícuotas de la solución stock del estándar de 1.92 ml, 2.40ml, 3.0ml, 3.76ml, 4.70ml llevándolas a un balón de 10 ml respectivamente posteriormente se tomó 1ml y se llevó a un balón de 100 ml, aforando con buffer fosfato pH 8 (B.3) alcanzando así las concentraciones de A=1.92 µg/ml, B=2.40 µg/ml, C=3.0 µg/ml, D=3.76 µg/ml y E=4.70 µg/ml.

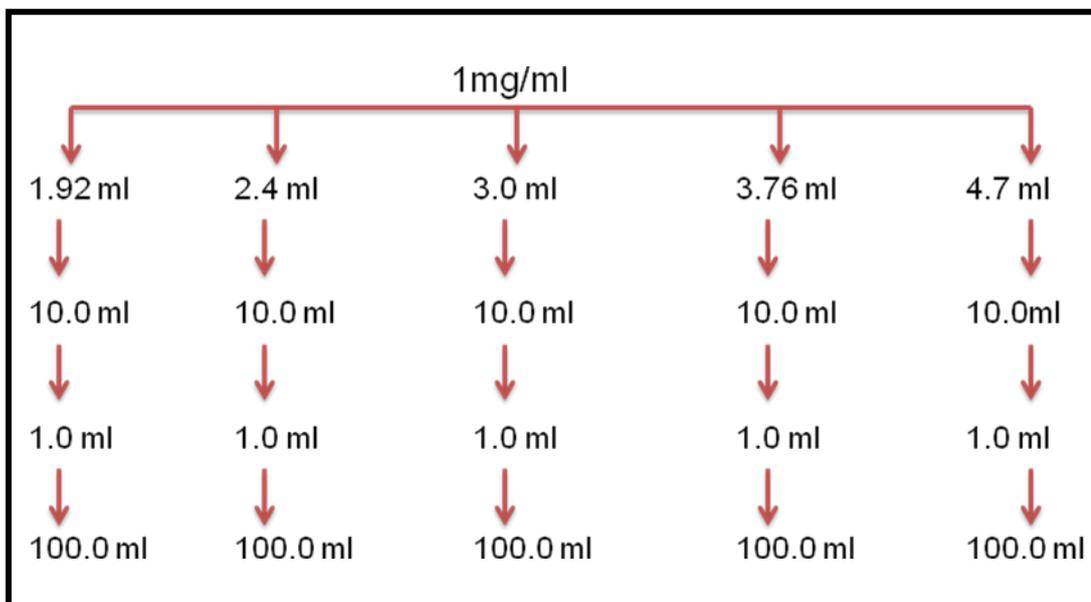


Figura № 17. Esquema de preparación de línea dosis respuesta, partiendo de una solución stock de 1 mg/ml.

- PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.

Se realizó la matriz del producto con las concentraciones crecientes del analito de 75, 100 y 125 porciento.

- CONCENTRACIÓN AL 75%.

Se pesó en una balanza analítica el equivalente a 22.5 mg de estándar de trabajo de Gentamicina sulfato, se transfirió el estándar a un balón volumétrico de 100 ml, se lavó el porta muestra con 25 ml de buffer fosfato pH 8 (B.3), se agitó hasta solubilizar llevar a volumen final de 100 ml con buffer fosfato pH 8 (B.3) y se homogenizó la solución (Solución №1), posteriormente se tomó 1 ml y se llevó a un balón de 100 ml con **buffer** fosfato pH 8 (B.3) (Solución №2). Donde se alcanza una concentración de 2.25 µg/ml.

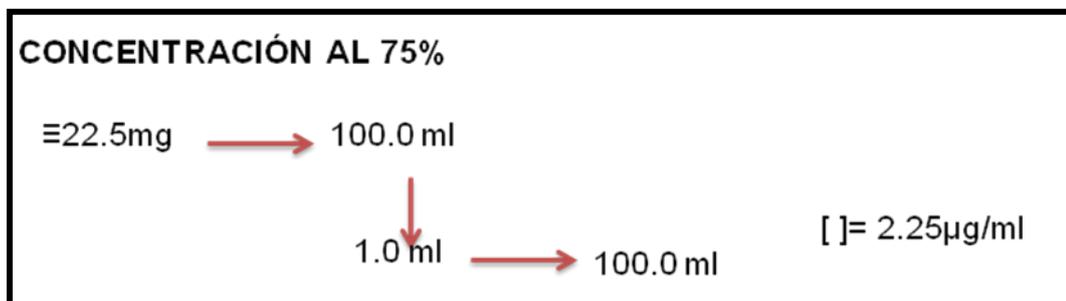


Figura № 18. Esquema de preparación de la muestra al 75%

- CONCENTRACIÓN AL 100%.

Se pesó en una balanza analítica el equivalente a 30.0 mg de estándar de trabajo de Gentamicina sulfato, se transfirió el estándar a un balón volumétrico de 100 ml, se lavó el porta muestra con 25 ml de buffer fosfato pH 8 (B.3), se agitó hasta solubilizar llevar a volumen final de 100 ml con buffer fosfato pH 8 (B.3) y se homogenizó la solución (Solución №1), posteriormente se tomó 1ml y se llevó a un balón de 100 ml con buffer fosfato pH 8 (B.3) (Solución №2). Donde se alcanza una concentración de 3.00 $\mu\text{g/ml}$

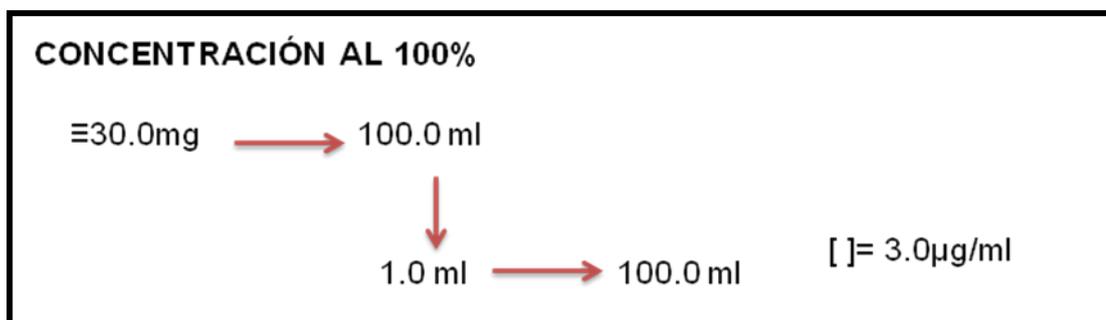


Figura № 19. Esquema de preparación de la muestra al 100%.

- CONCENTRACIÓN AL 125%.

Se pesó en una balanza analítica el equivalente a 37.5 mg de estándar de trabajo de Gentamicina sulfato, se transfirió el estándar a un balón volumétrico de 100 ml, se lavó el porta muestra con 25 ml de buffer fosfato pH 8 (B.3), se agitó hasta solubilizar llevar a volumen final de 100 ml con buffer fosfato pH 8 (B.3) y se homogenizó la solución (Solución №1), posteriormente se tomó 1ml y se llevó a un balón de 100 ml con buffer fosfato pH 8 (B.3) (Solución №2). Donde se alcanza una concentración de 3.75 µg/ml.

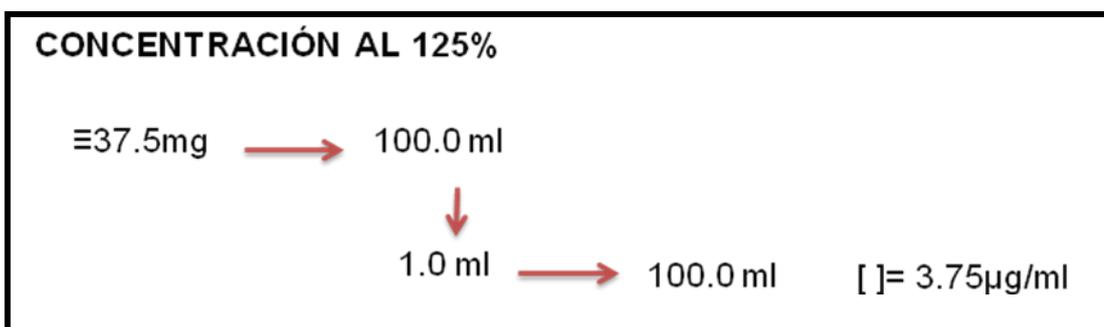


Figura № 20. Esquema de preparación de la muestra al 125%.

- CORRIDA DEL ENSAYO.

El análisis se efectuó el ensayo utilizando estándar USP contra estándar de trabajo de Gentamicina sulfato en concentraciones crecientes de 75,100 y 125%. Los ensayos se realizaron por triplicado y durante tres días diferentes. Llevando las muestras (matrices 75,100 y 125%) por triplicado para cada ensayo.

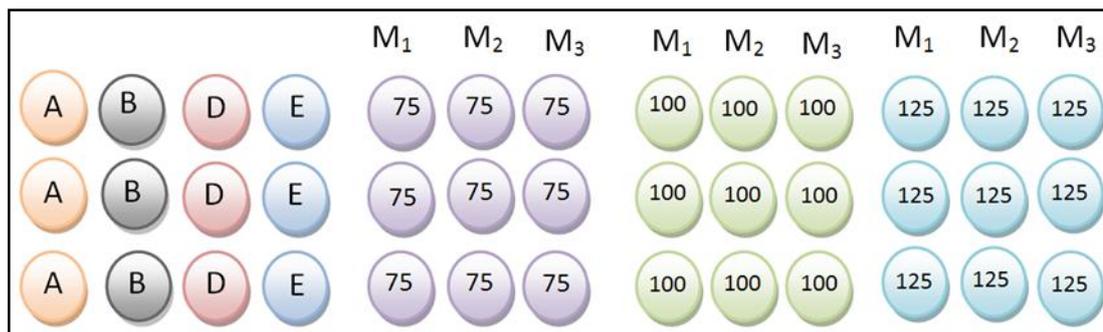


Figura № 21. Esquema del ensayo para el parámetro de desempeño linealidad y rango

De los datos obtenidos se encontró la ecuación de la recta de regresión: $Y = bx + a$.

Donde:

Y = Respuesta, b = Pendiente, x = Concentración y a = Terminio independiente

Los datos fueron introducidos en un programa computarizado donde por mínimos cuadrados se obtuvo la recta de regresión y cada componente para determinar un coeficiente de correlación (r) el debe de ser mayor de 0.99.

El test de linealidad se analizó además mediante el coeficiente de variación de los factores de respuesta:

$$cv = \frac{S}{\bar{x}} 100$$

Donde:

S = Desviación estándar.

X = promedio del contenido encontrado.

El coeficiente de variación para parámetros de ensayos microbiológicos no debe de ser mayor a un cinco por ciento ($cv \leq 5\%$).

Para encontrar la desviación estándar se utilizó la formula:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \text{ para } n-1 \text{ grados de libertad.}$$

4.4.3.2.2 EXACTITUD.

Se desarrollo el ensayo por triplicado utilizando estándar calidad USP de Gentamicina sulfato contra estándar de trabajo en concentraciones crecientes del analíto de 75, 100, 125 %. (Datos arrojados por el ensayo de linealidad y rango).

Donde se determinaron los porcentajes de recobro para evaluar la exactitud con que se recuperan en los diferentes ensayos los rangos en los que se debe de recuperar es de 95-105%.

Además se evaluó la exactitud del método mediante el coeficiente de variación de los porcentajes de recobro:

$$cv = \frac{S}{\bar{x}} 100$$

Donde:

S= Desviación estándar.

\bar{x} = promedio del porcentaje de recobro..

El coeficiente de variación para parámetros de ensayos microbiológicos no debe de ser mayor a un cinco por ciento ($cv \leq 5\%$).

Estadísticamente se realizó mediante la curva de t de Student siendo:

$$t_{\text{exp}} = \frac{|m - \bar{x}| \sqrt{n-1}}{S}$$

Donde:

m=Valor verdadero.

n=Número de determinaciones.

\bar{x} = valor medio.

S = desviación estándar.

Una vez encontrado el valor de la t experimental se comparó con el valor t de tablas y t experimental no debe de ser mayor a t de tabla. (Ver anexo № 12)

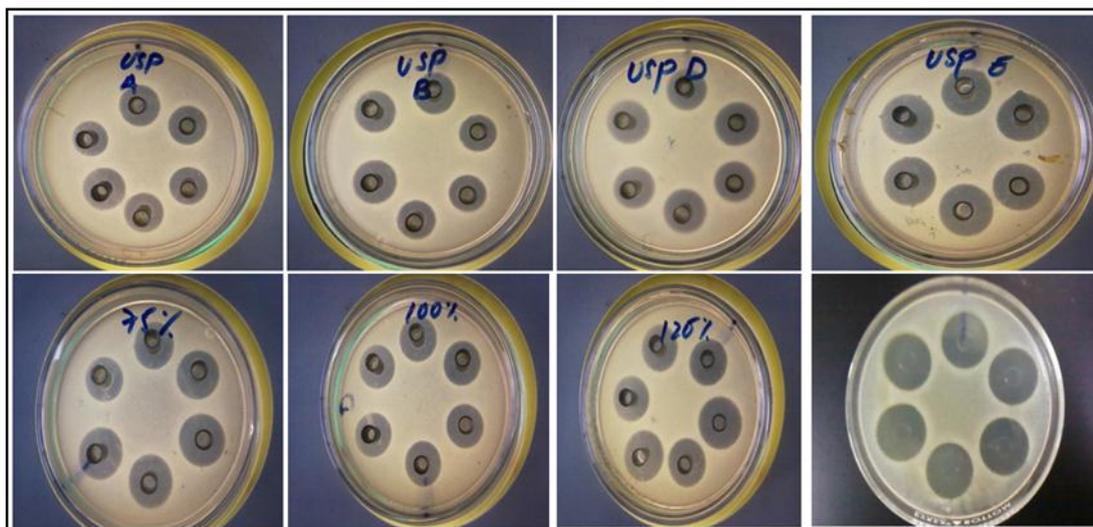


Figura № 22. Análisis de los parámetros linealidad, rango y exactitud del método.

4.4.3.2.3 PRECISIÓN.

Se desarrolló el ensayo nueve veces utilizando estándar de trabajo para la curva dosis-respuesta contra una muestra de Gentamicina sulfato, dichos análisis se realizaron por tres diferentes analistas y días diferentes además se analizaron en tiempos diferentes de reposo.

Se llevó a cabo tres estudios simultáneos para la determinación del método:

- Repetibilidad: Ensayos en condiciones normales establecidos en la metodología analítica desarrollada. (Mismo analista, misma temperaturas, mismo nivel de incubación y el mismo tiempo de reposo).

- Reproducibilidad: 3 diferentes analistas y días diferentes de análisis.

- Robustez: Cambios en el tiempo de reposo previo a la incubación (1, 1.5 y 2 horas).

- PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN STOCK.

Se pesó en una balanza analítica el equivalente a 25mg Gentamicina utilizando estándar de trabajo, se transfirió el estándar a un balón volumétrico de 25 ml, se lavó el porta muestra con 5 ml de buffer fosfato pH 8 (B.3), se agito hasta solubilizar llevar a volumen final de 25 ml con buffer fosfato pH 8 (B.3) y se homogenizo la solución stock.

- PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES.

Se prepararon los estándares con una concentración de A,B,C,D,E tomando alícuotas de 1.92 ml, 2.40 ml, 3.0 ml, 3.76 ml, 4.70 ml llevándolas a un balón de 10 ml respectivamente posteriormente se tomó 1ml y se llevó a un balón de 100 ml cada una realizando cada dilución con buffer fosfato pH 8 (B.3) alcanzando así las concentraciones de A=1.92 $\mu\text{g/ml}$, B=2.40 $\mu\text{g/ml}$, C=3.0 $\mu\text{g/ml}$, D=3.76 $\mu\text{g/ml}$ y E=4.70 $\mu\text{g/ml}$.

- PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.

VIALES DE SULFATO DE GENTAMICINA: se colocó el contenido de 10 viales de Gentamicina sulfato de 160 mg/2ml en un erlenmayer con rosca con capacidad de 50 ml estéril y se homogenizó, se tomó con una pipeta volumétrica 3 ml de muestra de Gentamicina sulfato y se transfirió a un balón volumétrico de 200 ml (Dilución №1), se llevó a volumen con la solución buffer fosfato pH 8 (B.3) y se homogenizó; de esta dilución se tomaron 5 ml y se transfirieron a un balón de 200 ml (Dilución №2) se aforó con solución buffer fosfato pH 8 (B.3) y se agitó, luego se tomó nuevamente 1 ml, de la solución №2 transfiriéndolo a un balón de 10 ml, se aforó con solución buffer fosfato pH 8 (B.3) y se agitó. Alcanzando una concentración final cerca de 3.0 $\mu\text{g/ml}$.

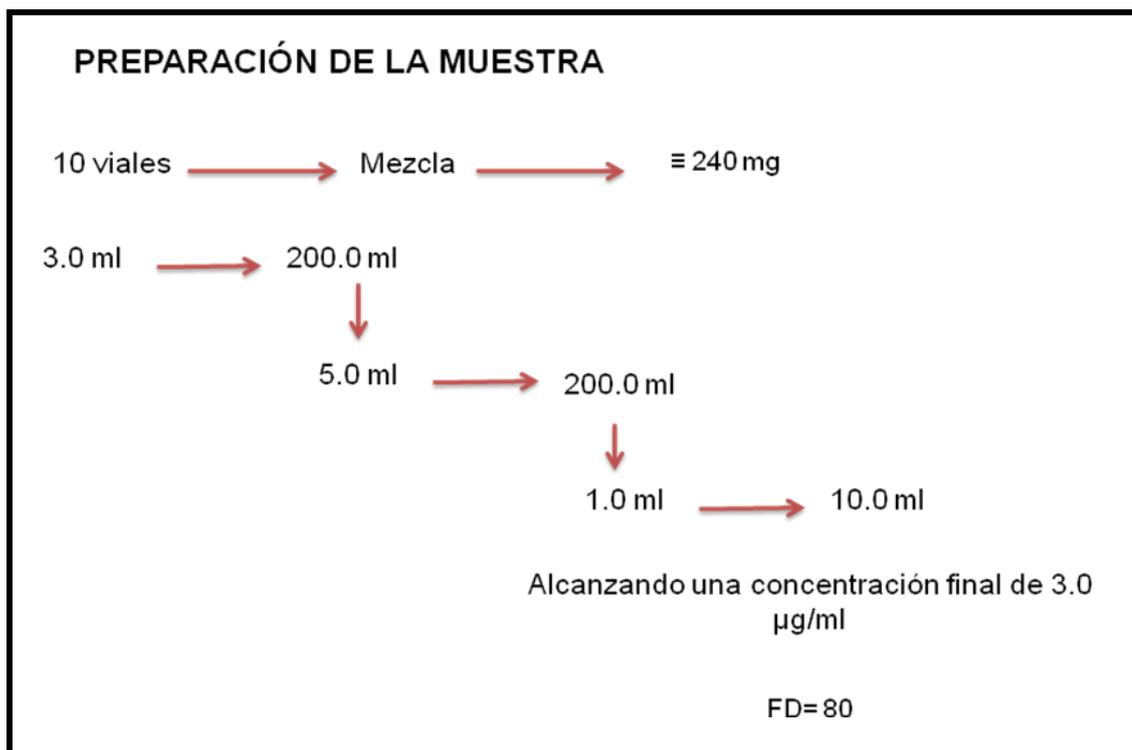


Figura № 23. Esquema de dilución de la muestra de Gentamicina 160mg/2ml

- **CORRIDA DEL ENSAYO.**

- **REPETIBILIDAD.**

Condiciones del ensayo:

- a. Mismo analista.
- b. Mismo procedimiento.
- c. Temperatura de incubación 32-35°C.
- d. Tiempo de reposo previo a la incubación 1 hora.
- e. Nivel de incubación único.

Se prepararon los estándares y la muestra, se colocaron los estándares en 12 placas y 9 placas la muestra. Una vez colocados la muestra y los estándares se reposo las placas por 1 hora previo a la incubación. Se realizó por triplicado (utilizando un mismo analista).

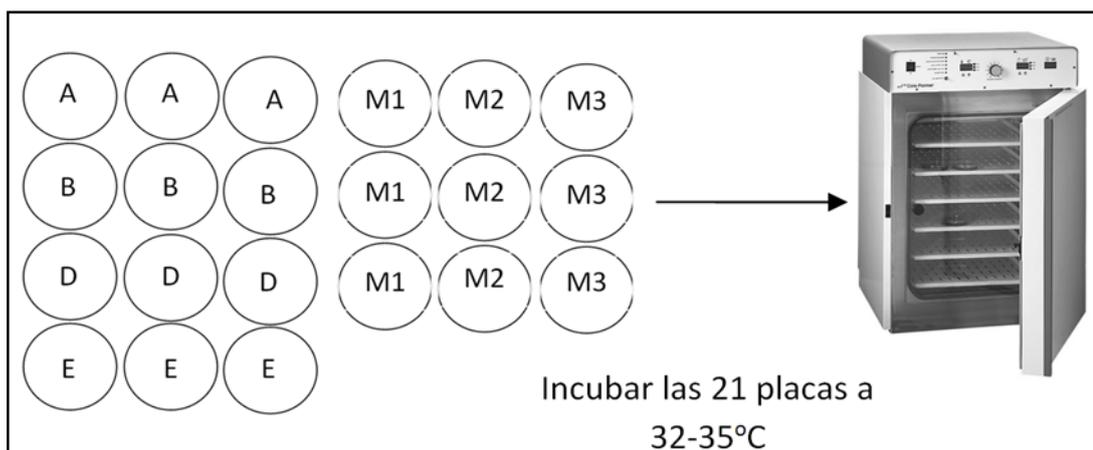


Figura № 24. Esquema del ensayo para el parámetro de desempeño precisión.

- REPRODUCIBILIDAD.

Condiciones del ensayo:

- a. Analistas diferentes (1, 2 y 3).
- b. Días diferentes.
- c. Mismo procedimiento.

Se prepararon los estándares y la muestra, se colocaron los estándares en 12 placas y 9 placas la muestra. Una vez colocados la muestra y los estándares se reposó las placas por 1 hora previo a la incubación (utilizando 3 analistas).

- ROBUSTEZ.

Condiciones del ensayo:

Tiempo de reposo previo a la incubación 1, 1.5 y 2 horas.

Se prepararon los estándares y la muestra, se colocaron los estándares en 12 placas y 9 placas la muestra (M_1 , M_2 y M_3) con un tiempo de reposo de 1 hora, 9 placas la muestra (M_1 , M_2 y M_3) con un tiempo de reposo de 1.5 hora y 9 placas la muestra (M_1 , M_2 y M_3) con un tiempo de reposo de 2 hora.

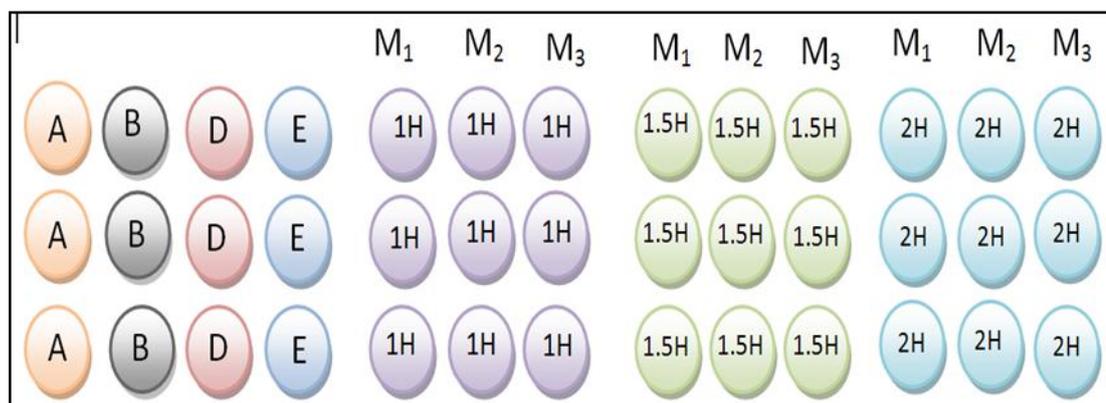


Figura № 25. Esquema del ensayo para el parámetro de desempeño precisión- robustez.

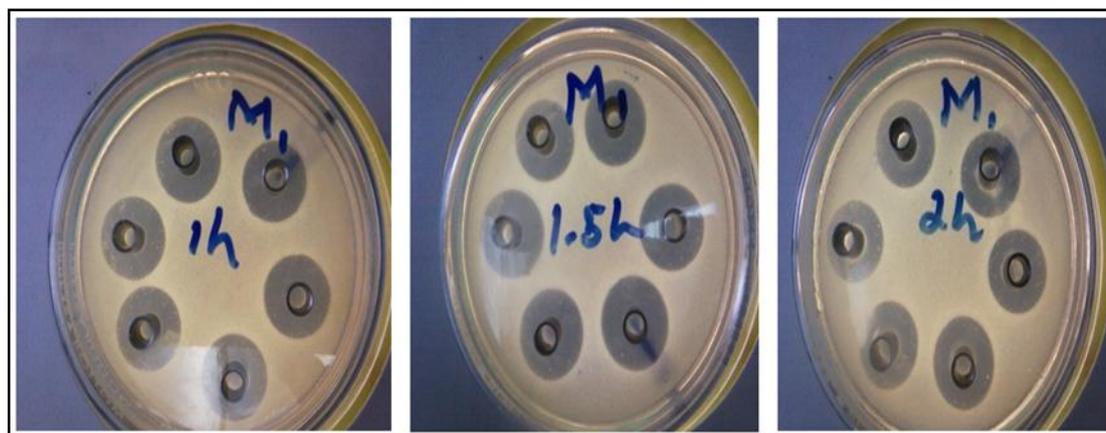


Figura № 26. Análisis del parámetro de desempeño precisión.

Para la determinación de la precisión del método se analizó mediante el coeficiente de variación de los factores de respuesta:

$$CV = \frac{S}{\bar{x}}100$$

Donde:

S= Desviación estándar.

\bar{x} = promedio del contenido encontrado.

Para encontrar la desviación estándar se utilizará la formula.:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (xi - \bar{x})^2}{n-1}} \text{ Para } n^{-1} \text{ grados de libertad.}$$

El coeficiente de variación para parámetros de ensayos microbiológicos no debe de ser mayor a un cinco por ciento ($cv \leq 5\%$).

4.4.4 ELABORACIÓN DEL MATERIAL DIDÁCTICO.

Se desarrollo un material didáctico en forma esquemática del ensayo de potencia que fue entregado al coordinador de la asignatura: para el caso de la asignatura de Control de Calidad de Productos Farmacéuticos, Cosméticos y Veterinarios fue entregado al Lic. Eliseo Ernesto Ayala Mejía y para la asignatura de Microbiología Aplicada III fue entregado a la MSc. Norma Esthela Molina Velásquez.

El material entregado contenía la siguiente información:

- Introducción,
- Objetivos,
- Monografía de Gentamicina según la Farmacopea,
- Hoja técnica de Gentamicina,
- Marco teórico,
- Determinación del microorganismo de prueba y medio de cultivo de un antibiótico seleccionado,
- Preparación del inóculo,
- preparación de la suspensión del microorganismo,
- preparación de los estándares,
- preparación de la muestra,
- Técnica de ensayo para la determinación de potencia de Gentamicina sulfato solución inyectable 160mg/2ml,
- Cálculos para la determinación de potencia y
- Parámetros evaluados en la investigación.

CAPITULO V
RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

5.1 RESULTADOS.

5.1.1 PARÁMETROS DE DESEMPEÑO LINEALIDAD Y RANGO.

Cuadro № 7. Resultados de porcentajes de principio activo la linealidad y rango

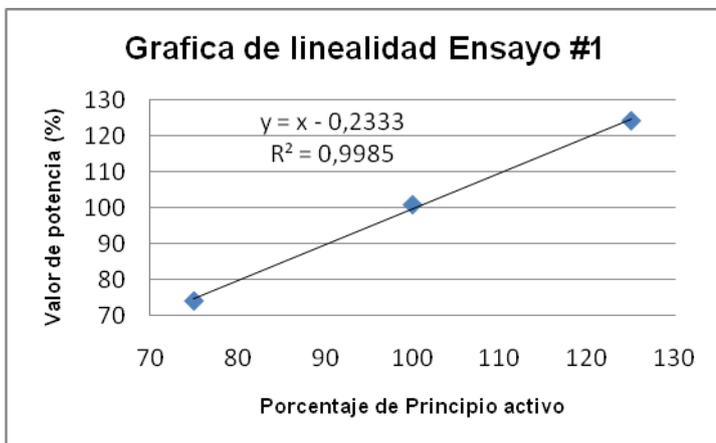
 PARÁMETRO DE DESEMPEÑO LINEALIDAD ANÁLISIS DE GENTAMICINA SULFATO MÉTODO: CILINDRO PLACA ESTÁNDAR DE TRABAJO LOTE: ET0811000118 VENCIMIENTO: FEBRERO DE 2011 ESTÁNDAR USP LOTE: M1J001 VENCIMIENTO: VIGENTE						
Porcentaje	Ensayo	M1	M2	M3	Promedio	CV
75%	1	74,0%	74,0%	74,7%	74,2%	0,54%
	2	72,7%	74,7%	76,0%	74,5%	2,23%
	3	73,3%	74,7%	73,3%	73,8%	1,10%
100%	1	101,3%	103,3%	98,0%	100,9%	2,64%
	2	100,7%	103,3%	100,7%	101,6%	1,49%
	3	102,0%	98,0%	100,0%	100,0%	2,00%
125%	1	124,0%	128,7%	120,0%	124,2%	3,50%
	2	128,3%	125,3%	128,3%	127,3%	1,36%
	3	121,7%	124,0%	124,0%	123,2%	1,08%

Ejemplo: cálculo del coeficiente de variación

Porcentaje	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$
74.0	-0.2	0.04
74.0	-0.2	0.04
74.7	0.0	0.25
$\bar{X} = 74.2$	$\Sigma = 0.4$	$\Sigma = 0.33$

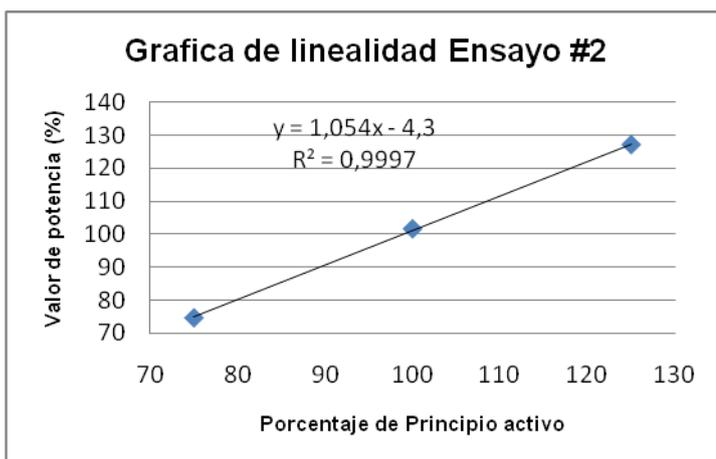
$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0.33}{2}} = 0.406 \quad CV = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100 = \frac{0.4062}{74.2} \cdot 100 = 0.54\%$$

5.1.1.1 DETERMINACIÓN DE LA ECUACIÓN DE LA LÍNEA RECTA Y COEFICIENTE DE CORRELACIÓN.



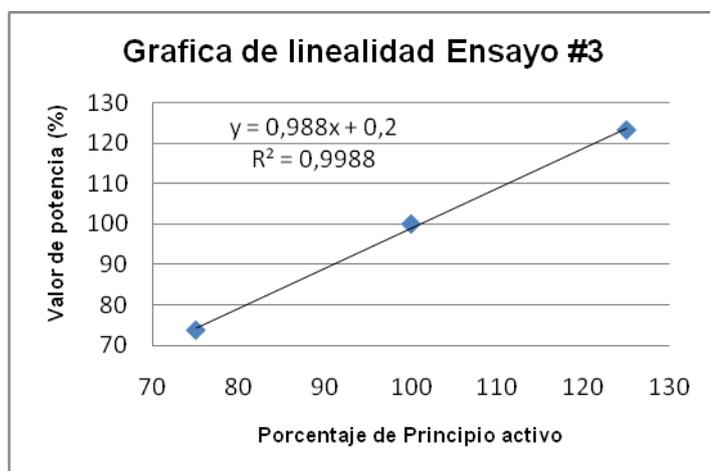
% P. activo	Ensayo # 1
75,0%	74,2%
100,0%	100,9%
125,0%	124,2%

Figura 27. Grafica de linealidad del ensayo # 1



% P. activo	Ensayo # 2
75,0%	74,5%
100,0%	101,6%
125,0%	127,2%

Figura 28. Grafica de linealidad del ensayo # 2



% P. activo	Ensayo # 3
75,0%	73,8%
100,0%	100,0%
125,0%	123,2%

Figura 29. Grafica de linealidad del ensayo # 3

Cuadro № 8. Ecuación de la línea recta y coeficiente de correlación de los ensayos de linealidad.

Ensayo	Ecuación de la línea recta	Coeficiente de correlación (r)
1	$Y = x + 0.2333$	$r = 0.9992$
2	$Y = 1.054x - 4.3$	$r = 0.9998$
3	$Y = 0.988x + 0.2$	$r = 0.9993$

La linealidad del método representa que a medida aumenta la concentración del analito aumenta la respuesta en el rango establecido o estudiado, los criterios de aceptación para determinar si el método se comporta linealmente en el rango establecido es: un coeficiente de correlación mayor a 0.99 y que debe de presente una tendencia lineal.

Al desarrollar las gráficas para evaluar la linealidad del método se obtuvo un coeficiente de correlación promedio de 0.9994. Así también, se determinó que el rango de trabajo de 75-125% respecto a la concentración de principio activo, el ensayo proporciona una gráfica de tendencia lineal.

Dentro de cada análisis el coeficiente de variación se encuentra en un rango entre 0.54-3.5% .

5.1.2 PARÁMETRO DE DESEMPEÑO EXACTITUD.

Cuadro № 9. Resultados de porcentajes de recobro y coeficientes de variación.

 PARÁMETRO DE DESEMPEÑO EXACTITUD ANÁLISIS DE POTENCIA DE GENTAMICINA SULFATO MÉTODO: CILINDRO PLACA ESTÁNDAR DE TRABAJO LOTE: ET0811000118 VENCIMIENTO: FEBRERO DE 2011 ESTÁNDAR USP LOTE: M1J001 VENCIMIENTO: VIGENTE								
% P.A	Mx	Ensayo 1	P.A Incorp.	Ensayo 2	P.A Incorp.	Ensayo 3	P.A Incorp.	
75	M1	22.2mg	22.5 mg	22.8mg	22.50mg	22.0 mg	22.56 mg	
	M2	22.2mg	22.44 mg	22.4mg	22.50mg	22.4 mg	22.50 mg	
	M3	22.4mg	22.50 mg	22.8mg	22.50 mg	22.0 mg	22.44 mg	
100	M1	30.4mg	30.00 mg	30.2mg	30.06 mg	30.6 mg	29.94 mg	
	M2	31.0mg	30.12 mg	31.0mg	30.00 mg	29.4 mg	30.00 mg	
	M3	29.4mg	30.00 mg	30.2mg	29.94 mg	30.0 mg	30.00 mg	
125	M1	37.2mg	37.56 mg	38.5mg	37.50 mg	36.5 mg	37.50 mg	
	M2	38.6mg	37.50 mg	37.6mg	37.56 mg	37.2 mg	37.50 mg	
	M3	36.0mg	37.50 mg	38.5mg	37.50 mg	37.2 mg	37.50 mg	
PORCENTAJE DE RECOBRO								
% P.A	Mx	Ensayo01	Ensayo02	Ensayo03	% Recobro 1	% Recobro 2	% Recobro 3	CV
75	M1	22.2 mg	22.8 mg	22.0 mg	98.7%	101.3%	97.5%	1.29 %
	M2	22.2 mg	22.4 mg	22.4 mg	98.9%	99.6%	99.6%	
	M3	22.4 mg	22.8 mg	22.0 mg	99.6%	101.3%	98.8%	
100	M1	30.4 mg	32.4 mg	30.6 mg	101.3%	100.5%	102.2%	1.89%
	M2	31.0 mg	31.0 mg	39.4 mg	102.9%	103.3%	98.0%	
	M3	29.4 mg	30.2 mg	30.0 mg	98.0%	100.9%	100.0%	
125	M1	37.2 mg	38.5 mg	36.5 mg	99.0%	102.6%	97.3%	2.45%
	M2	38.6 mg	37.6 mg	37.2 mg	102.9%	100.1%	99.2%	
	M3	36.0 mg	38.5 mg	37.2 mg	96.0%	102.7%	99.2%	

Cuadro № 10. Recuperación de principio activo en el ensayo de exactitud.

 PARÁMETRO DE DESEMPEÑO EXACTITUD ANÁLISIS DE POTENCIA DE GENTAMICINA SULFATO MÉTODO: CILINDRO PLACA ESTÁNDAR DE TRABAJO LOTE: ET0811000118 VENCIMIENTO: FEBRERO DE 2011 ESTÁNDAR USP LOTE: M1J001 VENCIMIENTO: VIGENTE		
Ensayo al 75%	Ensayo al 100%	Ensayo al 125%
22.2 mg	30.4 mg	37.2 mg
22.8 mg	30.2 mg	38.6 mg
22.0 mg	30.6 mg	36.0 mg
22.2 mg	31.0 mg	38.5 mg
22.4 mg	31.0 mg	37.6 mg
22.4 mg	29.4 mg	38.5 mg
22.4 mg	29.4 mg	36.5 mg
22.8 mg	30.2 mg	37.2 mg
22.0 mg	30.0 mg	37.2 mg
$\bar{X} = 22.4\text{mg}$	$\bar{X} = 30.2\text{mg}$	$\bar{X} = 37.4\text{ mg}$
$t_{\text{exp}} = 0.94$	$t_{\text{exp}} = 0.95$	$t_{\text{exp}} = 0.31$

Ejemplo: cálculo del porcentaje de recobro

$$\% \text{ Recobro} = \frac{\text{Cantidad recuperada}}{\text{Cantidad adicionada}} * 100$$

$$\% \text{ Recobro} = \frac{22.2}{22.5} \times 100 = 98.7\% \quad \text{Se encuentra en el rango 95-105\%}$$

Calculo de t_{exp}

$$t_{\text{exp}} = \frac{|m - \bar{x}| \sqrt{n-1}}{S}$$

Donde:

m=Valor verdadero

n=Número de determinaciones

\bar{x} = valor medio

S = desviación estándar

Calculo de la 't' experimental para las concentraciones de 75,100,125%

$$t_{\text{exp } 75\%} = \frac{|22.5 - 22.4| * \sqrt{8}}{0.30} = 0.94$$

$$t_{\text{exp } 100\%} = \frac{|30.0 - 30.2| * \sqrt{8}}{0.60} = 0.95$$

$$t_{\text{exp } 125\%} = \frac{|37.5 - 37.4| * \sqrt{8}}{0.92} = 0.31$$

La exactitud de un método es la cercanía de los resultados de las pruebas a un valor verdadero.

Los criterios de aceptación para determinar si el método se comporta exacto es: CV < 5%, "t" experimental menor a "t" de tabla, donde t tabla es de 1.860 con n-1 grados de libertad con al 95% de confianza.

Esta fue determinada mediante la linealidad del método, utilizando concentraciones teóricas conocidas del estándar de 75, 100 y 125%, donde se obtuvo un coeficiente de variación para el 75% de 1.29%; para 100% de 1.89% y para 125% de 2.45%.

Se obtuvo un porcentaje de recobro en el rango de 96 al 103.3% siendo un rango permitido para métodos microbiológicos entre 95-105%. El análisis estadístico arrojó que para el 75% una "t" experimental de 0.94, el 100% una "t" experimental de 0.95 y para el 125% una "t" experimental de 0.31 donde se presenta "t" experimentales menores a la "t" teórico.

5.1.3 PARÁMETRO DE DESEMPEÑO PRECISIÓN.

Cuadro № 11. Resultados de análisis de parámetro de precisión.

 PARÁMETRO DE DESEMPEÑO PRECISIÓN ANÁLISIS DE POTENCIA DE GENTAMICINA SULFATO 160MG/2ML MÉTODO: CILINDRO PLACA LOTE: 10080163 F. FAB: 03/09/10 F. VTO: 03/09/13 ANALISTA 1: BR. ROSA AMINTA MERLOS ALEMÁN ANALISTA 2: LIC. SILVIA CAROLINA MUÑOZ FRANCES ANALISTA 3: LIC. NORMA ESTHELA MOLINA VELÁSQUEZ						
ANALISTA 1	Ensayo	Hora	M1	M2	M3	CV
	1	1	100.0%	101.7%	101.7%	0.97%
	2		101.3%	103.3%	101.3%	1.13%
	3		101.7%	100.0%	100.0%	0.97%
	1	1.5	100.0%	100.0%	101.7%	0.97%
	2		101.3%	103.3%	101.3%	1.13%
	3		101.7%	100.0%	100.0%	0.97%
	1	2	100.0%	100.0%	101.7%	0.97%
	2		103.3%	103.3%	103.3%	0.00%
	3		100.0%	101.7%	100.0%	0.97%
CV Global: 1.24%						
ANALISTA 2	Ensayo	Hora	M1	M2	M3	CV
	1	1	100%	100.0%	103.3%	1.89%
	2		101.3%	100.0%	101.3%	0.74%
	3		100.0%	96.7%	101.7%	0.97%
	1	1.5	100.0%	100.0%	100.0%	0.00%
	2		100.0%	100.0%	101.3%	0.75%
	3		100.0%	101.7%	100.0%	0.97%
	1	2	100.0%	100.0%	103.3%	1.89%
	2		101.3%	101.3%	101.3%	0.0%
	3		100.0%	101.7%	100.0%	0.97%
CV Global: 1.00%						
ANALISTA 3	Ensayo	Hora	M1	M2	M3	CV
	1	1	98.0%	98.0%	100.0%	1.17%
	2		102.6%	100.0%	100.0%	1.48%
	3		99.3%	103.3%	99.3%	2.35%
	1	1.5	102.0%	100.0%	98.0%	2.00%
	2		102.6%	100.0%	101.3%	1.28%
	3		99.3%	103.3%	103.3%	2.26%
	1	2	100.0%	100.0%	102.0%	1.14%
	2		100.0%	102.6%	100.0%	1.48%
	3		100.0%	100.0%	103.3%	1.87%
CV Global: 1.68%						

La precisión del método fue medida por tres parámetros: Repetibilidad, Reproducibilidad y Robustez.

REPETIBILIDAD.

Se utilizó un lote de producto terminado con una concentración de 160mg/2ml, donde se obtuvo un coeficiente de variación global de 1.24%, esto como resultado de tres ensayos realizados por un analista, por lo que no sobrepasa al 5% establecido para métodos microbiológicos.

En los ensayos realizados se percibieron posibles factores de errores que pueden afectar el ensayo:

- Un aumento en el coeficiente de variación del analista puede ser ocasionado por la cristalería volumétrica utilizada durante todos los ensayos. La cristalería se encontraba con una pequeña cantidad de grasa a pesar de las buenas prácticas de lavado, lo que genera un pequeño error en las mediciones durante la realización de los ensayo, por consiguiente un diferencia en el cálculo de potencia, generando un coeficiente de variación mayor que el coeficiente de variación propiamente dicho del ensayo.
- Al no encontrarse el área de trabajo controlada y al ser ***Staphylococcus epidermidis***, un microorganismo muy difícil de manipular, existió contaminación accidental (presencia de colonias de microorganismo desconocidos) en las placas de algunos ensayos pero esto no interfirió en

el cálculo de potencia en los ensayos realizados, ya que a pesar de dicha contaminación, se produjeron halos definidos y claramente medibles.

REPRODUCIBILIDAD.

- Fue utilizado un lote de producto terminado con una concentración de 160mg/2ml, donde se obtuvo un coeficiente de variación promedio de 1.31%, siendo para el analista 1 un CV de 1.24, para el analista 2 un CV de 1.0 y el analista 3 un CV de 1.68 esto como resultado de tres ensayos realizados por tres diferentes analistas, en días diferentes, por lo que no sobrepasa al 5% establecido para métodos microbiológicos.

- De acuerdo a dos ensayos realizados por dos diferentes analistas utilizando la misma concentración del microorganismo, los halos de inhibición generados en los ensayos se ven sujetos a las condiciones del tratamiento durante el ensayo del microorganismo, es decir, que el microorganismo se ve influenciado por diferentes variables en el desarrollo del ensayo, las cuales son la temperatura (cuyo medio de cultivo es inoculado), el tiempo que tarde el analista en la inoculación de las placas (por el tiempo exposición del microorganismo a los 45° C).

Una pequeña variación en la temperatura, en la cual se mantiene el microorganismo a la hora de inocular las placas y un tiempo de exposición prolongado, son un factor clave en los tamaños de los halos generados en el ensayo, es decir, a mayor tiempo de exposición y a mayor temperatura los halos de inhibición generados en el ensayo serán más grandes

respecto a aquellos donde se mantengan a la temperatura establecida de 45° C y en un tiempo mínimo. Pero este debilitamiento del microorganismo no debe generar incoherencias en el ensayo manteniéndose así la precisión del método.

ROBUSTEZ.

Fue determinada utilizando variable como el tiempo de reposo previo a la incubación de 1, 1.5 y 2 horas, la cual se considera puede llegar a afectar al ensayo en determinado momento.

Se observó que al prolongar el tiempo de reposo, aumenta el diámetro del halo de inhibición sin que exista un cambio en el cálculo de potencia.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. Al desarrollar el ensayo con la concentración que estipula la USP 30-NF25, se obtuvieron halos de inhibición con diámetros menores a los establecidos, por lo que fue necesario buscar una concentración media que arrojara diámetros entre 14 y 16 milímetros. A nivel de laboratorio se determinó que la concentración de 3 µg/mL era la concentración que se adaptaba a las condiciones del Laboratorio de Microbiología ya que esta proporciona halos de inhibición en el rango antes mencionado. Además al tener halos de inhibición con un diámetro amplio sus lecturas son más sencillas para el analista y como resultado de ello reduce el error en sus lecturas disminuyendo así el coeficiente de variación en cada ensayo.
2. Fue necesario reducir los cinco puntos que recomienda la convención de Armonización (ICH) para determinar la linealidad de un método analítico, debido que al utilizar el rango de 80-120 % recomendado para producto terminado; los resultados obtenidos son muy cerrados y la diferencia en el nivel de respuesta es casi nulo; por lo tanto se trabajó con un intervalo de 75-125 %, utilizando solamente tres puntos críticos con ello se obtiene resultados con cambios más visibles y se asegura la linealidad del método en ese rango.

3. Conforme a los resultados arrojados por los ensayos de potencia por la metodología de análisis para Gentamicina 160 mg/2ml y los criterios de aceptación del parámetro de desempeño, en un rango de 75-125 % el comportamiento del método presenta una tendencia lineal ya que al aumentar la concentración del analito aumenta la respuesta y proporcionar gráficas que responden a ecuaciones lineales con un coeficiente de variación mayor a 0.99, presentando además en dicho rango una exactitud y precisión comprobada al presentar coeficientes de variación menores al 5 % establecidos para criterios microbiológicos, además para exactitud porcentajes de recobro en un rango de 95-105% y “t” experimentales menores a la “t” teórica. Por lo tanto la metodología elaborada puede ser utilizada confiablemente ya que cumple con las características de desempeño porque proporciona resultados confiables.
4. A través de la realización del trabajo se determinó la necesidad de la adaptabilidad del método a las condiciones del laboratorio, que fueron superadas y se elaboró el material didáctico al que fueron incorporadas y presentadas a los docentes de las cátedras de Microbiología Aplicada III y Control de Calidad de Productos Farmacéuticos (Humanos y Veterinarios) de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

CAPÍTULO VII
RECOMENDACIONES

7. RECOMENDACIONES

1. Efectuar el ensayo de potencia, es imperante que los analistas comprendan la metodología de análisis a desarrollar, para minimizar los riesgos que puedan afectar los resultados del ensayo. Ya que de ello depende el éxito o fracaso del análisis, debido que en la determinación de potencia de antibióticos existen puntos críticos (temperatura de inoculación, tiempo de exposición del microorganismo a cuarenta y cinco grados Celsius, estandarización del microorganismo, inoculación de placas, preparación del microorganismo de prueba y volumetría) tanto en la parte fisicoquímica como en la microbiológica.
2. Desarrollar el ensayo para el análisis de potencia de Gentamicina sulfato solución inyectable de 160mg/2ml, es de especial consideración que se desarrolle de la forma en que ha sido planteada la técnica, manteniendo los volúmenes específicos durante todo el ensayo, ya que cualquier cambio en los volúmenes puede generar errores no contemplados en el análisis de parámetros de desempeño, pudiendo existir un error en el cálculo de potencia como consecuencia proporcionando resultados de confiabilidad dudosa.
3. Realizar el ensayo potencia por el método cilindro placa es indispensable que se desarrolle bajo aéreas controladas tanto la estandarización del microorganismo con el ensayo propiamente dicho,

ya que el microorganismo de prueba para determinar potencia de Gentamicina es altamente sensible a la contaminación, evitando así contaminación accidental del microorganismo o de las placas de petri, generando errores en la medición de las lecturas de los halos de inhibición.

4. Ejecutar el ensayo de potencia tomando en cuenta los puntos críticos específicamente; la temperatura en la cual se mantiene el microorganismo a la hora de inocular las placas y el tiempo de exposición, por lo tanto, no debe de exponerse a mayor temperatura de la estipulada en la metodología y el tiempo de exposición debe de ser el mínimo necesario ya que al aumentar dichos factores se pueda generar un debilitamiento del microorganismo hasta llegar a la muerte del mismo, teniendo como resultado ausencia de crecimiento microbiano y por consecuencia ausencia de halos de inhibición impidiendo la determinación de la potencia del antibiótico.
5. Utilizar el material didáctico desarrollado tanto docentes como estudiantes de la cátedra Control de Calidad de Productos Farmacéuticos (Humanos y Veterinarios) y Microbiología Aplicada III, para que en el desarrollo de las prácticas de laboratorios los resultados no presenten variabilidad y sean confiables pudiendo concluir de manera objetiva en la calidad de las muestras analizadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. CFR (Code of Federal Regulations). 1991. Título 21. Washington, EUA. The Office of Federal Register National Archives and Records Administration., Parte 300 a 499 p. 298-304.
2. Gómez Ortiz, O. E, "DISEÑO DE UNA PLANTA PRODUCTORA DE GENTAMICINA SOLUCIÓN INYECTABLE", versión digital, véase en [¡Error! Referencia de hipervínculo no válida.](#) [accesado 10-04-10].
3. Martínez Martínez, L, "MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS", versión digital, véase en www.sld.cu/galerias/doc/sitios/apuacuba/mecanismos_de_accion_de_lo_antimicrobianos.doc [accesado 3-03-10].
4. Mora, J. D., 2007 "IMPLEMENTACIÓN Y DESARROLLO DE LA TÉCNICA DE POTENCIA MICROBIANA DE ANTIBIÓTICOS Y SU IMPACTO ECONÓMICO EN LA EMPRESA CALOX DE COSTA RICA, S.A." Instituto Tecnológico De Costa Rica Trabajo de Graduación Escuela De Biología.
5. Mejía Rangel, L. S. 2008 "VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TILOSINA EN UN PRODUCTO SOLIDO" Pontificia Universidad Javeriana, Trabajo de graduación de la Facultad de Ciencias Bogotá D.C, p. 2-3.
6. Moreno P. Lorenzo y otro, "VELÁZQUEZ FARMACOLOGÍA BÁSICA Y CLÍNICA" 17ª edición. Editorial Médica Panamericana, p. 809-815.
7. Muñoz Francés, S. C., 2006 "VALIDACIÓN DEL MÉTODO MICROBIOLÓGICO CILINDRO-PLACA PARA POTENCIA DEL

ANTIBIÓTICO LINCOMICINA CLORHIDRATO”, Trabajo de Graduación Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador, p. 22-3.

8. Palomino, J. y otros, 2003, “AMINOGLUCÓSIDOS”, Servicios de enfermedades infecciosas, Hospital Universitario Virgen del Rosario, Sevilla España. Versión digital, véase en http://external.elsevier.es/espacioformacion/eimc/eimc_docs/28v21n02a13042869pdf001.pdf [accesado 12-04-10].
9. United States Pharmacopeial Convention, INC. 1980, “The United States Pharmacopeia”. USP XX ed. Washington D.C. EUA. p. 882-888.
10. United States Pharmacopeial Convention, INC. 2006, “The United States Pharmacopeia”. USP 29 ed. Washington D.C. EUA. p. 1144.
11. United States Pharmacopeial Convention, INC. 2007, “The United States Pharmacopeia”. USP 30 ed. Washington D.C. EUA, version digital. Apartados <81>, <1225>, <1035>.
12. www.guinama.com/viewProductDetail.aspx?idProd=188 CATÁLOGO DE MEDICAMENTOS GENÉRICOS INTERCAMBIABLES, “GENTAMICINA SULFATO”, versión digital, [accesado 16-03-10].

ANEXOS

ANEXO № 1

Gentamicina, Inyección

» La Inyección de Gentamicina contiene una cantidad de Sulfato de Gentamicina equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 125,0 por ciento de la cantidad de gentamicina declarada en la etiqueta. Puede contener amortiguadores del pH, conservantes y agentes complejantes adecuados, a menos que esté destinada para uso intratecal, en cuyo caso sólo contiene agentes de tonicidad adecuados.

Envasado y almacenamiento—Conservar en envases monodosis o multidosis, preferentemente de vidrio Tipo I.

Estándares de referencia USP (11)—*ER Endotoxina USP. ER Sulfato de Gentamicina USP.*

Identificación—Aplicar por separado un volumen de Inyección equivalente a 20 µg de gentamicina y el mismo volumen de una preparación similar de ER Sulfato de Gentamicina USP a una placa para cromatografía en capa delgada adecuada (ver *Cromatografía* (621)) recubierta con una capa de 0,25 mm de gel de sílice para cromatografía con un tamaño promedio de poro de 6 nm. [NOTA—Diluir la Inyección con agua, si fuera necesario, para obtener una solución de prueba que contenga 1000 µg de gentamicina por mL. Cuando la Inyección contiene menos de 1000 µg por mL, aplicar un volumen de Inyección, equivalente a 20 µg de gentamicina, a la placa cromatográfica, en porciones separadas de no más de 20 µL cada una y dejar que cada aplicación se seque antes de aplicar la siguiente.] Colocar la placa en una cámara cromatográfica adecuada y desarrollar el cromatograma con una fase móvil constituida por la fase inferior de una mezcla de cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (20:13:10) hasta que el frente de la fase móvil haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, secar al aire y exponer la placa a vapores de yodo en un frasco de detección que contenga cristales de yodo: las intensidades y los valores R_f de las tres manchas principales obtenidas a partir de la solución de prueba corresponden a los valores obtenidos a partir de la Solución estándar.

Endotoxinas bacterianas (85)—No contiene más de 0,71 Unidades USP de Endotoxinas por mg de gentamicina.

pH (791): entre 3,0 y 5,5.

Partículas (788): cumple con los requisitos para inyecciones de pequeño volumen.

Disolventes residuales (467): cumple con los requisitos.

(Oficial a partir del 1° de enero de 2007)

Otros requisitos—Cumple con los requisitos en *Inyectables* (1).

Valoración—Proceder según se indica en *Antibióticos —Valoraciones Microbiológicas* (81), utilizando un volumen medido con exactitud de Inyección diluida cuantitativamente y en diluciones sucesivas con *Solución Amortiguadora N° 3* para producir una *Dilución de Prueba* con una concentración que se supone igual a la mediana de los niveles de dosis del Estándar (0,1 µg de gentamicina por mL).

Figura № 27 MONOGRAFÍA GENTAMICINA SULFATO, INYECCIÓN USP 30

Cuadro № 12 PREPARACION DE SOLUCIONES MADRE Y DILUCIONES DE PRUEBA DE ESTANDARES DE REFERENCIA. USP 30

Antibiótico y tipo de valoración CP= cilindro placa T= turbidimétrico	SOLUCIÓN MADRE				DILUCIÓN DE PRUEBA
	Disolvente inicial (Concentración inicial en aquellos casos en que este especificado); Diluyente posterior, si es diferente.	Solución madre final concentración por mL.	Usar dentro de	Diluyente final	Dosis media (µg de actividad o Unidades por mL)
Amicacina (T)	Agua	1 mg	14 días	Agua	10 µg
Anfotericina B (CP)	Dimetil sulfóxido	1 mg	Mismo día	B.10	1,0 µg
Bacitracina-cinc(CP)	Acido clorhídrico 0.01 N.	100U	Mismo día	B.1	1,0 U
Bleomicina (CP)	B.16	2U	14 días	B.16	0,04 µg
Candidina (T)	Dimetil sulfóxido	1 mg	Mismo día	Agua	0,06 µg
Capreomicina (T)	Agua	1 mg	7 días	Agua	100 µg
Carbenicilina (CP)	B.1	1 mg	14 días	B.1	20 µg
Cefalotina (CP)	B.1	1 mg	5 días	B.1	1,0 µg
Cefapirina (CP)	B.1	1 mg	3 días	B.1	1,0 µg
Cloranfenicol (T)	Alcohol (10 mg/ml); Agua	1 mg	30 días	Agua	2,5 µg
Cortetraciclina (T)	Acido clorhídrico 0.01 N	1 mg	4 días	Agua	0,06 µg
Cloxacilina(CP)	B.1	1 mg	7 días	B.1	5,0 µg
Colistimetato sódico(CP).	Agua (10 mg/ml) ; B.6	1 mg	Mismo día	B.6	1,0 µg
Colistina (CP)	Agua (10 mg/ml) ; B.6	1 mg	14 días	B.6	1,0 µg
Cicloserina (T)	Agua	1 mg	30 días	Agua	50 µg
Demeclociclina (T)	Acido clorhídrico 0.1 N	1 mg	4 días	Agua	0.1 µg
Dihidroestreptomicina (CP)	B.3	1 mg	30 días	B.3	1,0 µg
Dihidroestreptomicina (T)	Agua	1 mg	30 días	Agua	30 µg
Doxiciclina (T)	Acido clorhídrico 0.1 N	1 mg	5 días	Agua	0.1 µg
Eritromicina (CP)	Metanol (10 mg/ ml);B.3	1 mg	14 días	B.3	1,0 µg
Gentamicina (CP)	B.3	1 mg	30 días	B.3	0.1 µg
Gramicidina (T)	Alcohol 95%	1 mg	30 días	Alcohol 95%	0,04 µg
Kanamicina (T)	Agua	1 mg	30 días	Agua	10 µg
Metaciclina (T)	Agua	1 mg	7 días	Agua	0,06 µg
Nafcilina (CP)	B.1	1 mg	2 días	B.1	2,0 µg
Natamicina (CP)	Dimetil sulfoxido	1 mg	Mismo día	B.10	5 µg
Neomicina (CP)	B.3	100 µg	14 días	B.3	1,0 µg
Neomicina (T)	B.3	1 mg	14 días	B.3	1,0 µg
Netilmicina (CP)	B.3	1 mg	7 días	B.3	0,1 µg
Novobiocina (CP)	Alcohol (10 mg/ml);B.3	1 mg	5 días	B.6	0,5 µg
Nistatina (CP)	Dimetilformamida	1000 U	Mismo día	B.6	20 U
Oxitetraciclina (T)	Acido clorhídrico 0.1 N	1 mg	4 días	Agua	0,24 µg
Paromomicina (CP)	B.3	1 mg	21 días	B.3	1,0 µg
Penicilina G (CP)	B.1	1000 U	4 días	B.1	1,0 U
Polimixina B (CP)	Agua ; B.6	10 000 U	14 días	B.6	10 U
Rolitetraciclina (T)	Agua	1 mg	1 día	Agua	0,24 µg
Sisomicina (CP)	B.3	1 mg	14 días	B.3	0,1 µg
Estreptomicina (T)	Agua	1 mg	30 días	Agua	30 µg
Tetraciclina (T)	Acido clorhídrico 0.1 N	1 mg	1 día	Agua	0,24 µg
Tiostrepton (T)	Dimetil sulfoxido	1 U	Mismo día	Dimetil sulfoxido	0,80 µg
Ticarcilina (CP)	B.1	1 mg	1 día	B.1	5 µg
Tobramicina (T)	Agua	1 mg	14 días	Agua	2,5 µg
Troleandomicina (T)	Alcohol isopropilico-agua (4:1)	1 mg	Mismo día	Agua	25 µg

Cuadro № 13 PREPARACIÓN DEL INOCULO USP 30

Organismo de prueba ATCC	Condiciones de incubación			Composición sugerida del inoculo		Antibióticos valorados
	Medio	Temp °C	Tiempo	Medio	Cantidad %	
Bacillus subtilis (6633)	32	32-35	5 días	5	Según requerido	Dihidrostreptomina
Bordetella bronchiseptica (4617)	1	32-35	24 hrs.	8 10	Según requerido 0.1	Vancomicina Colistimetato Sodico, Colistina, Polimixina B
Escherichia coli (10536)	1	32-35	24 hrs	3	0.7	Cloranfenicol
Klebsiella pneumoniae (10031)	1	36-37.5	16-24 hrs	3	0,05	Capreomicina
Micrococcus luteus (9341)	1	32-35	24 hrs	39 11	2 1.5	Estreptomina, Troleandomicina, Dihidrostreptomina Neomicina Eritromocina
Micrococcus luteus (10240)	1	32-35	24 hrs	1	0.3	Bacitracina
Mycobacterium smegmatis (607)	36	36-37.5	48 hrs	35	1.0	Bleomicina
Pseudomonas aeruginosa (25619)	1	36-37.5	24 hrs.	10	0.5	Carbenicilina
Saccharomyces cerevisiae (9763)	19	29-31	48 hrs	13	0.2	Candidina
Saccharomyces cerevisiae (2601)	19	29-31	48 hrs	19 19	1.0 1.0	Anfotericina B Nistatina
Staphylococcus aureus (9144)	3	35-39	16-24 hrs	39	2-3	Tilosina
Staphylococcus aureus (29737)	1	32-35	24 hrs	1	0.1	Cefalotina, Cefapirina, Cloxacilina.
				1 1 3	0.3 1.0 0.1	Nafcilina Penicilina G Amicacina, clortetraciclina, Demeclociclina, Doxicilina, Metacilina, Oxitetraciclina, Rolitetraciclina, Tetraciclina.
				3 3 3	0.2 0.4 0.15	Kanamicina Cicloserina Tobramicina
Staphylococcus epidermidis (12228)	1	32-35	24 hrs	11	0.25	Netilmicina
				1 11 11 11	4.0 0.03 0.4 2.0	Novobiocina Gentamicina, Sisomicina Neomicina Paromomicina
Enterococcus hirae (10541)	3	36-37.5	16-18 hrs	3	1.0	Gramicidina
	40	36-37.5	16-24 hrs	41	0.2	Tiostrpton

Nota: para *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 25619) en la valoración de Carbenicilina, utilizar 0.5 ml en una dilución de 1:25 de la suspensión madre por 100 ml de medio 10.

ANEXO № 4

Cuadro № 14 MICROORGANISMOS DE PRUEBA PARA ANTIBIOTICOS

ANTIBIÓTICO	ORGANISMO DE PRUEBA	NUMERO ATCC
Amicacina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Anfotericina B	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9763
Bacitracina	<i>Micrococcus luteus</i>	10240
Bleomicina	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	607
Candidicina	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9763
Capreomicina	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
Carbenicilina	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25619
Cefalotina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Cefapirina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Clorafenicol	<i>Escherichia coli</i>	10536
Clortetraciclina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Cloxacilina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Colistimetato Sódico	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4617
Colistina	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4617
Cicloserina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Demeclociclina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Dihidroestreptomicina (CP)	<i>Bacillus subtilis</i>	6633
Dihidroestreptomicina (T)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
Doxiciclina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Eritromicina	<i>Micrococcus luteus</i>	9341
Gentamicina	<i>Staphylococcus epidermis</i>	12228
Gramicidina	<i>Enterococcus hirae</i>	10541
Kanamicina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Metaciclina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Nafcilina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Neomicina (CP)	<i>Staphylococcus epidermis</i>	12228
Neomicina (T)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
Netilmicina	<i>Staphylococcus epidermis</i>	12228
Novobiocina	<i>Staphylococcus epidermis</i>	12228
Nistatina	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2601
Oxitetraciclina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Paromomicina	<i>Staphylococcus epidermis</i>	12228
Penicilina G	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Polimixina B	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4617
Rolitetraciclina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Sisomicina	<i>Staphylococcus epidermis</i>	12228
Espectinomomicina	<i>Escherichia coli</i>	10536
Espectinomomicina (T)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
Tetraciclina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Tiostreptón (T)	<i>Enterococcus hirae</i>	10541
Tobramicina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Troleandomicina	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031
Tilosina	<i>Staphylococcus aureus</i>	29737
Vancomicina	<i>Bacillus subtilis</i>	6633

ANEXO № 5

CUADRO Nº 15 PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN DE MADRE DE MICROORGANISMO DE PRUEBA

Microorganismo de prueba ATCC	Condiciones de incubación			Dilución de la concentración madre 25%T	Composición sugerida para el inóculo		Antibiótico ensayado
	Medio	Temp °C	Tiempo		Medio	Cantidad %	
<i>Bacillus subtilis</i> (6633)	1	32 - 35	24 hr.	Según sea determinado	2	0.1	Rifanpin, Dactiomicina Deshidroestreptomicina
	32	32 - 35	5 días		5	Según se requiera	Canamicina B
					8	0.5	Mitomicina
					8	Según se requiera	Vancomicina
<i>Bordetella bronchiseptica</i> (4617)	1	32 - 35	24 hr.	1:20	10	0.1	Colistimetato de Sodio. Colistina, Poliomixina B
<i>Escherichia coli</i> (10536)	1	32 - 35	24 hr.	1:20	3	0.7	Clorafenicol
						0.1	Espectinomicina
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (10031)	1	32 - 35	24 hr.	1:25	3	0.05	Capreomicina
						0.1	Estreptomicina, Viomicina
<i>Micrococcus luteus</i> (9341)	1	32 - 35	24 hr.	1:40	11	0.5	Ampicilina, Peneticilina
					11	1.5	Clintamicina, Eritromicina, Lincomicina
<i>Micrococcus luteus</i> (10240)	1	32 - 35	24 hr.	1:35	1	0.3	Bacitracina
<i>Mycobacterium smegmatis</i> (607)	36	37	48 hr.	Según sea determinado	35	1.0	Bleomicina
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (25619)	1	37	24 hr.	1:25	10	0.5	Carbenicilina
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (29336)	35	37	24 hr.	1:50	38	1.5	Ticarcilina
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (9763)	19	32 - 35	24 hr.	Según sea determinado	13	0.2	Candidicina
	13	37	16-18 hr.	Según sea determinado	13	0.2	Candidicina

Cuadro Nº15 (CONTINUACIÓN)

<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (2601)	19	30	48 hr.	1:30	19	1.0	Anfotericina B, Nistatina		
<i>Staphylococcus aureus</i> (29737)	1	32 – 35	24 hr.	1:20	1	0.05	Cefasolina, Cefalexina, Cefradina		
							Cefaloridina, Cloxacilina, Dicloxacilina		
							Cefaloglicina		
							Nafcilina, Oxacilina		
							Penicilina G		
							Amikacina, Clortetraciclina, Demeclociclina, Doxiciclina, Metaciclina, Oxitetraciclina, Rolitetraciclina, Tetraciclina		
							3	0.1	
							3	0.2	Kanamicina, Minociclina
							3	0.4	Cicloserina
							3	0.15	Tobramicina
							8	0.1	Mitramicina
11	0.4	Neomicina B							
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (12228)	1	32 - 35	24 hr.	1:14	1	4.0	Novobiocina		
							11	0.03	Gentamicina
							11	1.0	Neomicina B
							1:25	11	2.0
<i>Streptococcus faecium</i> (10541)	3	37	16–18 hr.	Según sea determinado	3	1.0	Gramicidina		

ANEXO Nº 6

CUADRO Nº 16. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO PARA MÉTODOS

ANALÍTICOS SEGÚN LA USP 30.

*Pueden requerirse dependiendo de la naturaleza de la prueba específica

Característica de desempeño	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
		Prueba límite cuantitativa	Prueba límite cualitativa		
Exactitud	Si	Si	*	*	No
Precisión	Si	Si	No	Si	No
Especificidad	Si	Si	Si	*	Si
Límite de detección	No	No	Si	*	No
Límite de cuantificación	No	Si	No	*	No
Linealidad	Si	Si	No	*	No
Rango	Si	Si	*	*	No



LABORATORIO DE CENSALUD
TRABAJO DE GRADUACIÓN
SECCIÓN MICROBIOLOGÍA

DETERMINACIÓN DE POTENCIA DE ANTIBIÓTICO MÉTODO CILINDRO PLACA RESULTADOS DE LA CURVA ESTÁNDAR

Fecha de análisis: 09-03-11

Estándar: Gentamicina Sulfato.

Lote: ET081100118 59.1%

Vence: 08-2011

Valoración: Potencia de Antibiótico

PESO TEORICO: 0.0423g

PESO REAL: 0.0422g

CONCENTRACION TEORICA FINAL DEL ESTANDAR: 1 mg/ml

CONCENTRACION REAL FINAL DEL ESTANDAR: 0.997 mg/ml

Esquema de dilución para solución stock

0.0423g \equiv 25 mL $\xrightarrow{B3}$ 25.0 mL

Alicuota de línea dosis-respuesta Teórica		Alicuota de línea dosis-respuesta Real	
Alicuota (ml)	Concentración (μ g/ml)	Alicuota (ml)	Concentración (μ g/ml)
A <u>1.92</u>	<u>1.92</u>	<u>1.92</u>	<u>1.92</u>
B <u>2.40</u>	<u>2.40</u>	<u>2.40</u>	<u>2.40</u>
C <u>3.00</u>	<u>3.00</u>	<u>3.00</u>	<u>3.00</u>
D <u>3.75</u>	<u>3.75</u>	<u>3.76</u>	<u>3.76</u>
E <u>4.687</u>	<u>4.687</u>	<u>4.70</u>	<u>4.70</u>

Observaciones: _____

Analista: Rosa Aminta Merlos Alemán

Figura No 28 RECOLECCIÓN DE DATOS LÍNEA DOSIS RESPUESTA

LABORATORIO DE CENSALUD TRABAJO DE GRADUACIÓN SECCIÓN MICROBIOLOGÍA		DETERMINACIÓN DE POTENCIA DE ANTIBIÓTICO MÉTODO CILINDRO PLACA RESULTADOS DE LA CURVA ESTÁNDAR	
NOMBRE DEL ESTANDAR: <u>Gentamicina Jullat</u> <input checked="" type="checkbox"/> ESTANDAR DE TRABAJO LOTE: <u>ET0811000118</u> / VENCE: <u>Febrero - 2011</u> <input type="checkbox"/> ESTANDAR DE REFERENCIA USP POTENCIA: <u>59.8%</u> FECHA: <u>02-12-10</u> MICROORGANISMO DE PRUEBA: <u>Staphylococcus epidermidis</u> FECHA OBTENCION SUSPENSION: <u>02-12-10</u>		TRANSMITANCIA: <u>25.8%</u> ✓ ENSAYO No. <u>2</u>	
Lecturas			
Diámetros de Halos de inhibición			
Estándar C _A <u>15.0</u> <u>15.6</u> <u>15.4</u> <u>15.9</u> <u>15.0</u> <u>15.3</u> <u>15.6</u> <u>15.6</u> <u>15.3</u> Promedios <u>15.4</u> ✓	Estándar A <u>13.2</u> <u>13.4</u> <u>13.2</u> <u>13.5</u> <u>13.8</u> <u>14.1</u> <u>13.4</u> <u>13.5</u> <u>13.7</u> Promedios <u>13.5</u> ✓	Estándar C _B <u>14.9</u> <u>15.5</u> <u>14.9</u> <u>15.7</u> <u>15.0</u> <u>15.2</u> <u>16.4</u> <u>15.3</u> <u>15.6</u> Promedios <u>15.4</u> ✓	Estándar B <u>14.9</u> <u>13.9</u> <u>14.5</u> <u>11.4</u> * <u>15.3</u> <u>15.7</u> <u>13.9</u> <u>15.4</u> <u>14.5</u> Promedios <u>14.4</u> ✓
Estándar C _D <u>15.1</u> <u>15.0</u> <u>15.3</u> <u>15.6</u> <u>15.6</u> <u>14.9</u> <u>15.6</u> <u>14.9</u> Promedios <u>15.2</u> ✓	Estándar D <u>16.9</u> <u>16.4</u> <u>16.6</u> <u>16.6</u> <u>16.5</u> <u>16.6</u> <u>16.0</u> <u>16.2</u> <u>16.0</u> Promedios <u>16.4</u> ✓	Estándar C _E <u>15.3</u> <u>15.0</u> <u>15.5</u> <u>15.9</u> <u>15.4</u> <u>15.1</u> <u>15.2</u> <u>15.1</u> Promedios <u>15.3</u> ✓	Estándar E <u>17.7</u> <u>17.9</u> <u>17.8</u> <u>17.8</u> <u>17.9</u> <u>17.5</u> <u>17.4</u> <u>17.5</u> <u>13.2</u> Promedios <u>17.7</u> ✓

Figura № 29 PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN DE LÍNEA DOSIS RESPUESTA

ANEXO No 9

 LABORATORIO DE CENSALUD TRABAJO DE GRADUACIÓN SECCIÓN MICROBIOLOGÍA			
DETERMINACIÓN DE POTENCIA DE ANTIBIÓTICO MÉTODO CILINDRO PLACA RESULTADOS DE LA CURVA ESTÁNDAR			
Calculo de los diámetro promedio de la concentración media del estándar			
$C = \frac{18.2 + 18.2 + 18.1 + 18.2}{4} = \frac{72.7}{4}$ $C = \underline{18.2} \checkmark$			
DIAMETRO PROMEDIO CORREGIDO PARA ELESTANDAR A LAS CONCENTRACIONES A, B, D, E $(C - \bar{X}_{st}) + X_{st}$			
$\frac{A}{(18.2 - 18.2) + 15.2}$ $A = \underline{15.2} \checkmark$	$\frac{B}{(18.2 - 18.2) + 17.0}$ $B = \underline{17.0} \checkmark$	$\frac{D}{(18.2 - 18.1) + 19.0}$ $D = \underline{19.1} \checkmark$	$\frac{E}{(18.2 - 18.2) + 20.5}$ $E = \underline{20.5} \checkmark$
$L = \frac{3a + 2b + c - e}{5}$ $L = \frac{(3 \times 15.2) + (2 \times 17) + 18.2 - 20.5}{5}$ $L = \frac{77.3}{5}$ $L = \underline{15.5} \checkmark$		$H = \frac{3e + 2d + c - a}{5}$ $H = \frac{(3 \times 20.5) + (2 \times 19.1) + 18.2 - 15.2}{5}$ $H = \frac{102.7}{5}$ $H = \underline{20.5} \checkmark$	
Responsable: <u>Rosa Aminta Merlos</u>		Fecha: <u>01-02-11</u>	
SIMBOLOGIA UTILIZADA: C = Diámetro Promedio (mm) de 36 lecturas de los hatos obtenidos con la Solución Estándar de concentración media. a, b, d, e = Diámetros Promedio (mm) corregidos para las concentraciones más bajas y más altas del estándar respectivamente. L = Diámetro de halos (mm) calculado para la concentración más baja de la gráfica de repuesta. H = Diámetro de halos (mm) calculado para la concentración más alta de la grafica de respuesta. st = Estándar a, b, d o e respectivamente. X = Promedio de halos de inhibición (mm)			

Figura No 30 CALCULO DE "C" Y CORRECCIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN

ANEXO Nº 10

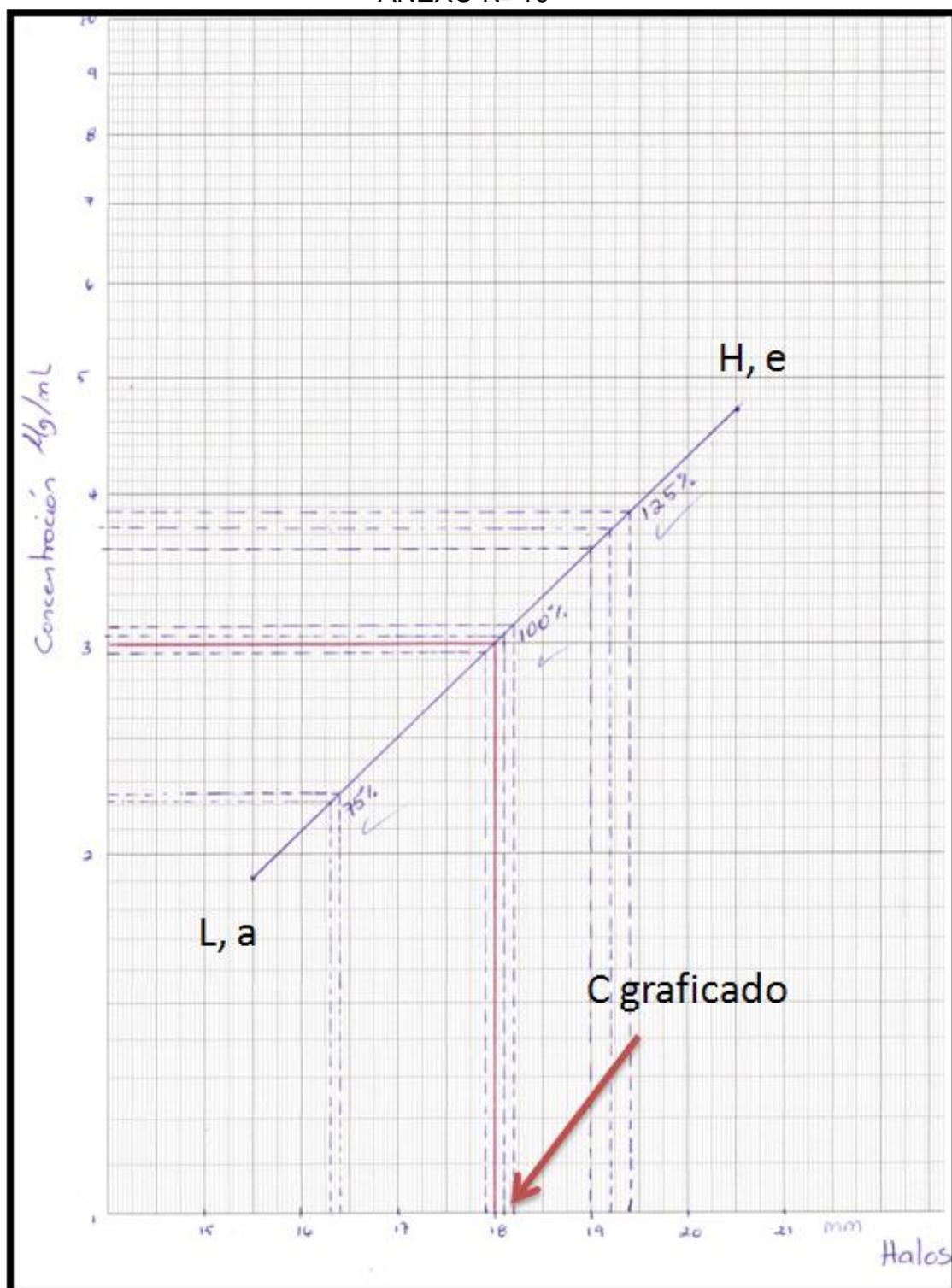


Figura Nº 31 GRAFICA DE LÍNEA DOSIS-RESPUESTA POR DOS PUNTOS (L, H)

ANEXO 11

Mx	lectura	1	2	3	4	5	6	7	8	9	\bar{X}	Mx-st
1	St.	18.5	18.5	18.4	18.2	18.2	18.5	18.5	17.9	18.3	18.3	0.1 ✓
	Mx	19.0	18.0	18.4	19.1	18.3	18.0	18.0	17.6	18.1	18.4	
2	St.	18.5	18.4	18.5	18.0	17.9	18.1	18.4	17.7	18.0	18.2	0.2 ✓
	Mx	19.0	18.7	18.3	18.5	18.5	18.3	17.9	18.5	18.3	18.4	
3	St.	18.0	18.4	18.4	18.2	18.0	18.4	18.0	18.1	18.1	18.2	-0.1 ✓
	Mx	18.2	18.0	18.5	18.0	17.9	18.3	18.2	17.9	18.3	18.1	

Dilución de la Muestra
 $0.0502 \text{ g} \equiv 30.0 \text{ mg} \xrightarrow{B_3} 100.0 \text{ mL}$
 \downarrow
 $1.0 \text{ mL } B_3 \rightarrow 100.0$ FD= 10

Diámetro de halos de muestra corregidos para interpolar en línea dosis respuesta
 $C + (\bar{X}_{mx} - \bar{X}_{st})$

1 $18 + (0.1) = 18.1$ $18.1 \equiv 3.04 \mu\text{g/mL}$ $3.04 \times 10 \equiv 30.4 \text{ mg}$ ✓	2 $18 + (0.2) = 18.2$ $18.2 \equiv 3.1 \mu\text{g/mL}$ $3.1 \times 10 = 31.0 \text{ mg}$ ✓	3 $18.0 + (-0.1) = 17.9$ $17.9 \equiv 2.94 \mu\text{g/mL}$ $2.94 \times 10 = 29.4 \text{ mg}$ ✓
--	---	--

Calculo del contenido

$P_{mx} 0.0502 \text{ g}$ $30.0 \rightarrow 100\%$ $30.4 \rightarrow x$ $x = 101.3\%$ ✓	$P_{mx} 0.0503 \text{ g}$ $30.0 \rightarrow 100\%$ $31.0 \rightarrow x$ $x = 103.3\%$ ✓	$P_{mx} 0.0501 \text{ g}$ $30.0 \rightarrow 100\%$ $29.4 \rightarrow x$ $x = 98\%$ ✓
--	--	---

Cálculos realizados en base a la línea dosis-respuesta de:
 con una concentración media de $30 \mu\text{g/mL}$ stander USP
 y una potencia de $1 \text{ mg} / 697 \mu\text{g}$

Observaciones:

Analista: Rosa Aminta Merlos Alemán Fecha: 01-02-11

Figura № 32 RECOLECCIÓN DE DIFERENCIAS DE LA MUESTRA VERSUS ESTÁNDAR, DETERMINACIÓN DE POTENCIA POR INTERPOLACIÓN.

ANEXO 12

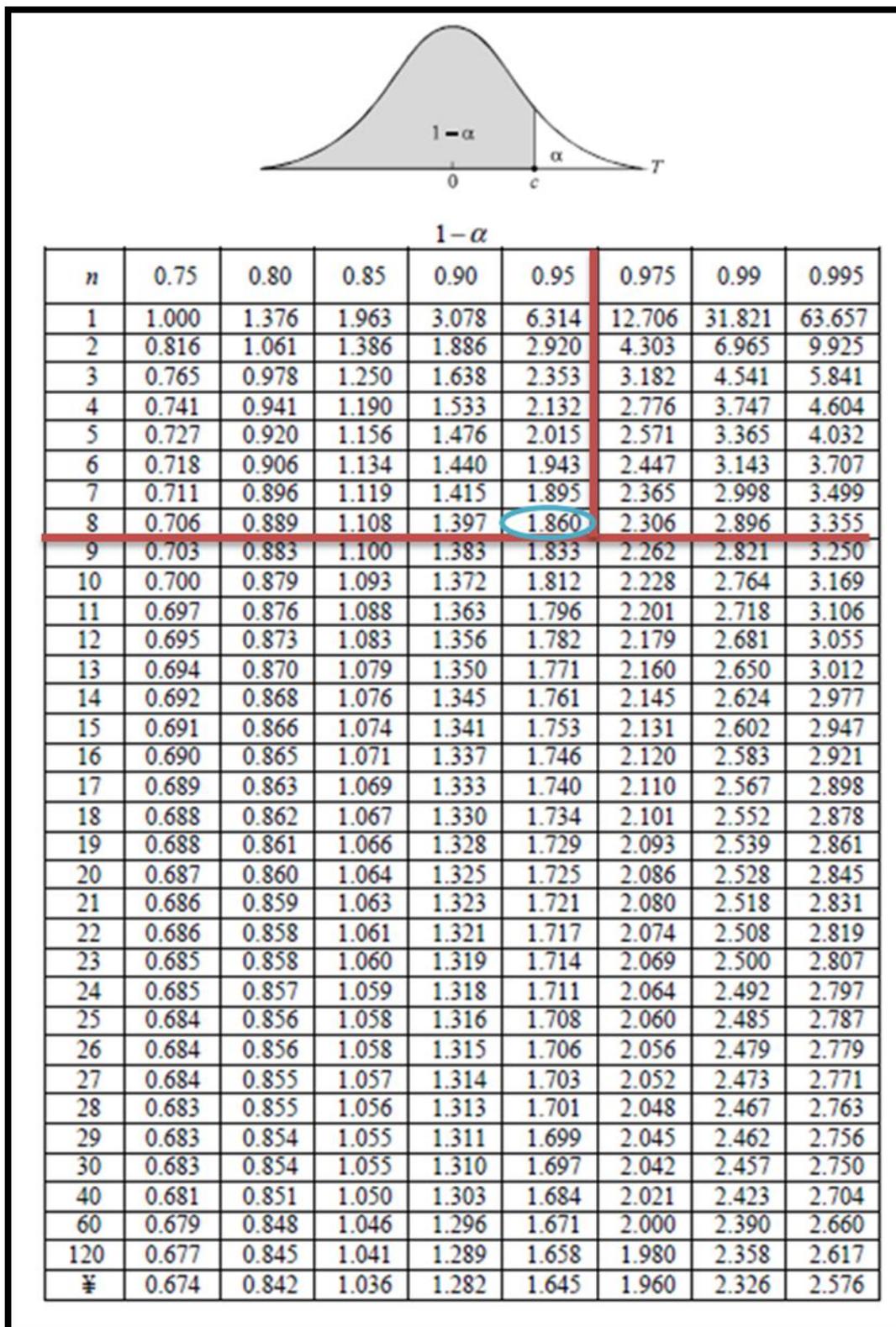


Figura № 33 TABLA DE T STUDENT

ANEXO Nº 13

CONACYT
CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA



Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Certificado de Calibración

Registro: 
CV-022/10

Se refiere a:

Objeto de la Calibración: Micropipeta de 0,02 mL a 0,2 mL
(20 µL a 200 µL)

Marca: BIOHIT

Tipo de Calibración: Para entregar

Número de Serie: AS25394

Número de Identificación: S/N°

Número de Inventario: S/N°

Fecha de la medición: 10/06/14

Está constituido de: 2 páginas

Destinatario: CENSALUD – MICROBIOLOGÍA, UES.
Final 25 Avenida Norte, Universidad de El Salvador,
San Salvador, El Salvador, C. A.

Solicitado por: CENSALUD – MICROBIOLOGÍA, UES.

Fecha: 10/06/14



Ing. Jorge A. Medrano
Sub Jefe

1/2

Ciudad Universitaria, Facultad de Ingeniería y Arquitectura

Figura Nº 37 CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE MICROPIPETA

ANEXO Nº 14




Laboratorio Nacional de Metrología Legal

Certificado de Calibración

El Laboratorio Nacional de Metrología Legal CERTIFICA: que a solicitud de **CENSALUD – MICROBIOLOGÍA, UES**, se calibró una Micropipeta de 0,02 mL a 0,2 mL (20 μ L a 200 μ L) de capacidad con puntas desechables de Polipropileno.

Dicha Micropipeta fue calibrada en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Metrología Legal.

El procedimiento utilizado fue el Gravimétrico y consistió en determinar la masa de agua entregada por la micropipeta; para lo cual se humedeció la micropipeta con una punta desechable cargándola con 0,2 mL (200 μ L); luego, se descargó en un recipiente de recibo y se pesó utilizando la balanza AE 240S, repitiendo este procedimiento cinco veces. Obteniéndose los resultados siguientes:

V = (0,200 5 \pm 0,000 2) mL; (200,507 4 \pm 0,238 7) μ L
a la temperatura de 20 °C

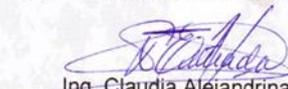
La calibración fue realizada a una temperatura promedio de (21,0 \pm 0,5) °C y a una humedad relativa promedio del 50%.

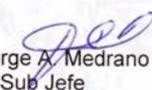
La trazabilidad está garantizada por los patrones de masa con certificado N° CM-001/10 de Enero/10, perteneciente al Laboratorio Nacional de Metrología Legal de El Salvador.

La incertidumbre expandida de la lectura del volumen está calculada con un nivel de confianza de aproximadamente el 95% correspondiendo a un factor de cobertura de k = 2.

El presente certificado solo ampara las mediciones reportadas en el momento y condiciones en que se realizó la calibración.

San Salvador, 14 de Junio de 2010.


 Ing. Claudia Alejandrina Estrada
 Metrólogo


 Ing. Jorge A. Medrano
 Sub Jefe



2/2

Ciudad Universitaria, Facultad de Ingeniería y Arquitectura

Figura Nº 38 (CONTINUACION)

ANEXO Nº 15




CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA

Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Certificado de Calibración

Registro: 
 CD-002 / 10

Se refiere a:

Objeto de la Calibración: Calibrador Universal

Marca: UYUSTOOLS

Número de Serie: S/N°

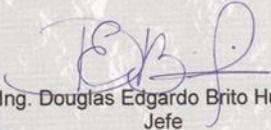
Fecha de la medición: 10/06/18

Está constituido de: 3 páginas.

Destinatario: CENSALUD. MICROBIOLOGÍA
Final 25 av. Norte. Ciudad Universitaria,
San Salvador, El Salvador, C.A.

Solicitado por: CENSALUD. MICROBIOLOGÍA

Fecha: 10/06/18


 Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
 Jefe



1/3

Ciudad Universitaria, Facultad de Ingeniería y Arquitectura
 Final 25 Avenida Norte, San Salvador, El Salvador, Centro América
 Telefax: (503) 2225-2608 • E-mail: labmet@conacyt.gob.sv

Figura Nº 39 CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE PIE DE REY

ANEXO Nº 16




Laboratorio Nacional de Metrología Legal

Certificado de Calibración

El Laboratorio Nacional de Metrología Legal, CERTIFICA: que a solicitud de CENSALUD. MICROBIOLOGÍA, se calibró el calibrador universal siguiente:

Marca:	UYUSTOOLS
Rango:	0,00 mm a 150,00 mm
Rango Calibrado:	0,00 mm a 100,00 mm
División de escala:	0,02 mm

Equipo utilizado: Juego de Bloques Patrón de Tránsito marca Mitutoyo Grado 0, con N° de serie 9906021 y N° de inventario 510599.

Condiciones ambientales de medición: Temperatura 18,50 °C
Humedad relativa 50%

Procedimiento: Con el bloque o combinación correspondiente a cada punto de calibración, se procedió a medir con el calibrador cinco lecturas tomando el promedio de cada punto como la mejor estimación de la lectura del conjunto de mediciones para cada punto.

Los resultados obtenidos fueron:

INDICACION	CORRECCION
mm	mm
0,00	0,00
1,04	0,00
1,80	0,00
10,00	0,00
50,00	0,00
60,00	0,00
75,00	0,00
99,99	0,01



La corrección debe sumarse a la indicación para obtener la lectura corregida.

2/3

Ciudad Universitaria, Facultad de Ingeniería y Arquitectura
Final 25 Avenida Norte, San Salvador, El Salvador, Centro América
Telefax: (503) 2225-2608 • E-mail: labmet@conacyt.gob.sv

Figura Nº 40 (CONTINUACIÓN)

ANEXO Nº 17

CONACYT
CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA

CD-002/10

Laboratorio Nacional de Metrología Legal

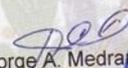
Certificado de Calibración

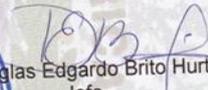
La incertidumbre expandida de la lectura del calibrador es: $\pm 15 \mu\text{m}$ para el rango de 0 mm 100 mm. Calculada con un nivel de confianza de aproximadamente el 95% con un factor de cobertura de $K=2$.

La cadena de trazabilidad está garantizada por el patrón transferencia con certificado N° CNM-CC-740-089/2007 del CENTRO NACIONAL DE METROLOGÍA (CENAM) de MEXICO.

El presente certificado solo ampara a las mediciones reportadas en el momento y condiciones en que se realizó la calibración.

San Salvador, 18 de Junio de 2010


 Jorge A. Medrano
 Metrologo


 Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
 Jefe



3/3

Ciudad Universitaria, Facultad de Ingeniería y Arquitectura
 Final 25 Avenida Norte, San Salvador, El Salvador, Centro América
 Telefax: (503) 2225-2608 • E-mail: labmet@conacyt.gob.sv

Figura Nº 41 (CONTINUACIÓN)

ANEXO Nº 18




Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Certificado de Calibración

Registro: 
 TV-026/10

Se refiere a:

Objeto de la Calibración: Termómetro de líquido en vidrio a columna de Mercurio.

Marca: NAHITA

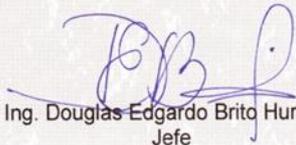
Fecha de la medición: 10/06/15

Está constituido de: 2 páginas.

Destinatario: CENSALUD, MICROBIOLOGÍA
 Final 25 Avenida Norte, Ciudad Universitaria,
 San Salvador, El Salvador, C.A.

Solicitado por: CENSALUD, MICROBIOLOGÍA

Fecha: 10/06/15


 Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
 Jefe



1/2

Ciudad Universitaria, Facultad de Ingeniería y Arquitectura
 Final 25 Avenida Norte, Ciudad Universitaria, San Salvador, El Salvador, C.A.

Figura Nº 42 CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE TERMÓMETRO.

ANEXO Nº 19




TV-026/10

Laboratorio Nacional de Metrología Legal

Certificado de Calibración

El Laboratorio Nacional de Metrología Legal CERTIFICA: que a solicitud de **CENSALUD, MICROBIOLOGÍA**, se calibró el termómetro de líquido en vidrio a columna de mercurio siguiente:

Rango: -10 °C a 360 °C
 Rango Calibrado: 32 °C a 45 °C
 División de escala: 1 °C

El termómetro fue comparado a inmersión total con el termómetro patrón de mercurio en vidrio ASTM 64C, con números de inventario 23.004 del LNML. Las condiciones de temperatura de prueba corresponden a las solicitadas por el cliente y fueron generadas usando un baño termostático de glicol. Los resultados obtenidos fueron:

INDICACIÓN ° C	CORRECCIÓN ° C
32	0,5
35	0,1
45	0,3

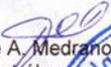
La corrección debe sumarse a la lectura para obtener la temperatura corregida. La escala de temperatura utilizada es la EIT 90.

La incertidumbre expandida de la lectura del termómetro es: $\pm 0,3$ °C para el rango de 32 °C a 45 °C. Calculada con un nivel de confianza de aproximadamente el 95% con un factor de cobertura $K=2$, tomando en cuenta la contribución de la cadena termométrica del laboratorio.

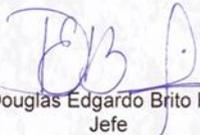
La cadena de trazabilidad está garantizada por el patrón de Transferencia con certificado N° TV-005/09, con referencia al patrón primario PT 100 con certificado N° CNM-CC-420-159/2008 del CENTRO NACIONAL DE METROLOGIA (CENAM), de MEXICO.

El presente certificado solo ampara a las mediciones reportadas en el momento y condiciones en que se realizó la calibración.

San Salvador, 15 de Junio de 2010



Jorge A. Medrano
Metrologo



Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe



Ciudad Universitaria, Facultad de Ingeniería y Arquitectura

2/2

Figura Nº 43 (CONTINUACIÓN)

ANEXO Nº 20




Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Certificado de Calibración

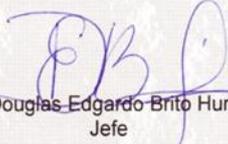
Registro: 
 CB-037 / 10

Se refiere a:

Objeto de la Calibración: Balanza Electrónica

Marca: COBOS
 Modelo: AY 220
 Número de Serie: D439700065
 Número de Inventario: 12050 – 0204 – 106 - 0037
 Fecha de la medición: 2010/06/15
 Está constituido de: 4 páginas
 Destinatario: LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA
 Final 25 Avenida Norte, Ciudad Universitaria, San Salvador, El Salvador, C.A.
 Solicitado por: Laboratorio de Microbiología/CENSALUD
 Fecha: 2010/06/15




 Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
 Jefe

1 / 4

Ciudad Universitaria, Facultad de Ingeniería y Arquitectura
 Final 25 Avenida Norte, San Salvador, El Salvador, Centro América

Figura Nº 44 CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE BALANZA ANALÍTICA

ANEXO Nº 21




Laboratorio Nacional de Metrología Legal

Certificado de Calibración

El Laboratorio Nacional de Metrología Legal CERTIFICA: que a solicitud del LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA/CENSALUD, se calibró la balanza siguiente:

Marca: COBOS
 Modelo: AY 220
 Nº de Serie: D439700065
 Nº de Inventario: 12050 – 0204 – 106 – 00372
 Máxima capacidad: 220 g
 Mínima división: 0,000 1 g

La balanza fue calibrada en su lugar de trabajo y procediendo con base en la recomendación internacional R 76-1 de la Organización Internacional de Metrología Legal OIML, se obtuvieron los resultados siguientes:

Prueba de Linealidad o Exactitud: Consiste en determinar los errores de la balanza en todo su rango de trabajo.

Las ecuaciones Ec.1 y Ec.2 son ecuaciones de quinto grado por medio de una regresión lineal que describen el comportamiento de la balanza en el rango calibrado. Las ecuaciones son:

$$C_L = a_0 + a_1L + a_2L^2 + a_3L^3 + a_4L^4 + a_5L^5 \quad (\text{Ec.1})$$

$$U_L = b_0 + b_1L + b_2L^2 + b_3L^3 + b_4L^4 + b_5L^5 \quad (\text{Ec.2})$$

Donde

- L: carga nominal.
- a_0, a_1, a_2, a_3, a_4 y a_5 : son los coeficientes de ajuste de la ecuación para obtener la corrección de la balanza en la carga L.
- b_0, b_1, b_2, b_3, b_4 y b_5 : son los coeficientes de ajuste de la ecuación para obtener la incertidumbre ($k = 2$) para la carga L.

Coeficientes de ajuste para la prueba de linealidad

Coeficientes de ajuste			
Corrección		Incertidumbre ($k = 2$)	
a_0	-0.000091753768	b_0	0.000058785843
a_1	-0.000015702021	b_1	-0.000017155927
a_2	-0.001649104862	b_2	0.000269956846
a_3	0.011046533265	b_3	-0.000997782647
a_4	-0.022265413493	b_4	0.001386453937
a_5	0.013144354474	b_5	-0.000641732732



2/4

Ciudad Universitaria, Facultad de Ingeniería y Arquitectura

Figura Nº 45 (CONTINUACIÓN)

ANEXO No 22



Figura No 46 (CONTINUACIÓN)

ANEXO No 23

CONACYT
CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA

CB-037/10

Laboratorio Nacional de Metrología Legal

Certificado de Calibración

El presente certificado solo ampara las mediciones reportadas en el momento y las condiciones en que se realizó la calibración.

San Salvador, 15 de Junio de 2010.

Ing. Carlos Rafael Artiga
Técnico Metrólogo

Ing. Douglas Edgardo Brito Hurtado
Jefe

REPUBLICA DE EL SALVADOR EN LA AMERICA CENTRAL

Laboratorio Nacional de Metrología Legal
Equipo Certificado por
CONACYT
El Salvador

4/4

Ciudad Universitaria, Facultad de Ingeniería y Arquitectura

Figura No 47 (CONTINUACIÓN)

ANEXO No 24



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
LABORATORIO DE QUÍMICA Y FARMACIA
TRABAJO DE GRADUACIÓN
SECCIÓN MICROBIOLOGÍA



CALIBRACIÓN DE CILINDROS DE ACERO INOXIDABLE

Registrador Rosa Aminta Mejlos Alemán

Cantidad de cilindros a calibrar 234 (121)

Especificaciones:

Diámetro interno	6mm
Diámetro externo	8mm
Largo	10mm

Fecha de calibración 15 - Julio de 2010 CENBALUD

Nº	Diámetro interno	Diámetro externo	Largo	Nº	Diámetro interno	Diámetro externo	Largo
1	6.00	8.0	10.0	28	6.0	8.0	10.0
2	6.0	8.0	10.0	29	6.0	8.0	10.0
3	6.0	8.0	10.0	30	6.0	8.0	10.0
4	6.0	8.0	10.0	31	6.0	8.0	10.0
5	6.0	8.0	10.0	32	6.0	8.0	10.0
6	6.0	8.0	10.0	33	6.0	8.0	10.0
7	6.0	8.0	10.0	34	6.0	8.0	10.0
8	6.0	8.0	10.0	35	6.0	8.0	10.0
9	5.9	8.0	9.9*	36	6.0	8.0	9.9*
10	6.0	8.0	10.0	37	6.0	8.0	10.0
11	6.0	8.0	10.0	38	6.0	8.0	10.0
12	6.0	8.0	10.0	39	6.0	8.0	10.0
13	6.0	8.0	10.0	40	6.0	8.0	10.0
14	6.0	8.0	10.0	41	6.0	8.0	10.0
15	6.0	8.0	10.0	42	6.0	8.0	10.0
16	6.0	8.0	10.0	43	6.0	8.0	10.0
17	6.0	8.0	10.0	44	6.0	8.0	10.0
18	6.0	8.0	10.0	45	6.0	8.0	10.0
19	6.0	8.0	10.0	46	6.0	8.0	10.0
20	5.9*	8.0	10.0	47	6.0	8.0	10.0
21	6.0	8.0	10.0	48	6.0	8.0	10.0
22	6.0	8.0	10.0	49	6.0	8.0	10.0
23	6.0	8.0	10.0	50	6.0	9.9*	10.0
24	6.0	8.0	10.0	52	6.0	8.0	10.0
25	6.0	8.0	10.0	53	6.0	8.0	10.0
26	6.0	8.0	10.0	54	5.8*	8.0	10.0
27	6.0	8.0	10.0				

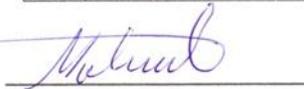
V. B MSc. Norma Esthela Molina Velázquez 

Figura No 48 HOJA DE CALIBRACIÓN DE CILINDROS

ANEXO No 26



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
LABORATORIO DE QUÍMICA Y FARMACIA
TRABAJO DE GRADUACIÓN
SECCIÓN MICROBIOLOGÍA



CALIBRACIÓN DE CILINDROS DE ACERO INOXIDABLE

Registrador Rosa Aminta Merles Alemán

Cantidad de cilindros a calibrar 234 (138)

Especificaciones:

Diámetro interno	6mm
Diámetro externo	8mm
Largo	10mm

Fecha de calibración 16 - Julio de 2010 Microbiología

Nº	Diámetro interno	Diámetro externo	Largo	Nº	Diámetro interno	Diámetro externo	Largo
1	6.0	8.0	10.0	28	6.0	8.0	10.0
2	6.0	8.0	10.0	29	6.0	8.0	10.0
3	6.0	8.0	10.0	30	6.0	8.0	10.0
4	6.0	8.0	10.0	31	6.0	8.0	10.0
5	6.0	8.0	10.0	32	6.0	8.0	10.0
6	6.0	8.0	10.0	33	6.0	8.0	10.0
7	6.0	8.0	10.0	34	6.0	8.0	10.0
8	6.0	8.0	10.0	35	6.0	8.0	10.0
9	6.0	8.0	10.0	36	6.0	8.0	10.0
10	6.0	8.0	10.0	37	6.0	8.0	10.0
11	6.0	8.0	10.0	38	6.0	8.0	10.0
12	6.0	8.0	10.0	39	6.0	8.0	10.0
13	6.0	8.0	10.0	40	6.0	8.0	10.0
14	6.0	8.0	10.0	41	6.0	8.0	10.0
15	6.0	8.0	10.0	42	6.0	8.0	10.0
16	6.0	8.0	10.0	43	6.0	8.0	10.0
17	6.0	8.0	10.0	44	6.0	7.9 *	10.0
18	6.0	8.0	10.0	45	6.0	8.0	10.0
19	6.0	8.0	10.0	46	6.0	8.0	10.0
20	6.0	8.0	10.0	47	6.0	8.0	10.0
21	6.0	8.0	10.0	48	6.0	8.0	10.0
22	6.0	8.0	10.0	49	6.0	8.0	10.0
23	6.0	8.0	10.0	50	6.0	8.0	10.0
24	6.0	8.0	10.0	51	6.0	8.0	10.0
25	6.0	8.0	10.0	52	6.0	8.0	10.0
26	6.0	8.0	10.0	53	6.0	8.0	10.0
27	6.0	8.0	10.0	54	6.0	8.0	10.0

V. B MSc. Norma Esthela Molina Velázquez Norma

Figura No 50 (CONTINUACIÓN)

ANEXO No 27



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
LABORATORIO DE QUÍMICA Y FARMACIA
TRABAJO DE GRADUACIÓN
SECCIÓN MICROBIOLOGÍA



CALIBRACIÓN DE CILINDROS DE ACERO INOXIDABLE

Registrador Rosa Aminta Merlos Alemán

Cantidad de cilindros a calibrar 234 (138)

Especificaciones:

Diámetro interno	6mm
Diámetro externo	8mm
Largo	10mm

Fecha de calibración 16 - Julio - 2010 Microbiología

Nº	Diámetro interno	Diámetro externo	Largo	Nº	Diámetro interno	Diámetro externo	Largo
55	6.0	8.0	10.0	82	6.0	8.0	10.0
56	6.0	8.0	10.0	83	6.0	8.0	10.0
57	6.0	8.0	10.0	84	6.0	8.0	10.0
58	6.0	8.0	10.0	85	6.0	8.0	10.0
59	6.0	8.0	10.0	86	6.0	8.0	10.0
60	6.0	8.0	10.0	87	6.0	8.0	10.0
61	6.0	8.0	10.0	88	6.0	8.0	10.0
62	6.0	8.0	10.0	89	6.0	8.0	10.0
63	6.0	8.0	10.0	90	6.0	8.0	10.0
64	6.0	8.0	10.0	91	6.0	8.0	10.0
65	6.0	8.0	10.0	92	6.0	8.0	10.0
66	6.0	8.0	10.0	93	6.0	8.0	10.0
67	6.0	8.0	10.0	94	6.0	8.0	10.0
68	6.0	8.0	10.0	95	6.0	8.0	10.0
69	6.0	8.0	10.0	96	6.0	8.0	10.0
70	6.0	8.0	10.0	97	6.0	8.0	10.0
71	6.0	8.0	10.0	98	6.0	8.0	10.0
72	6.0	8.0	10.0	99	6.0	8.0	10.0
73	6.0	8.0	10.0	100	6.0	8.0	10.0
74	6.0	8.0	10.0	101	6.0	8.0	10.0
75	6.0	8.0	10.0	102	6.0	8.0	10.0
76	6.0	8.0	10.0	103	6.0	8.0	10.0
77	6.0	8.0	10.0	104	6.0	8.0	10.0
78	6.0	8.0	10.0	105	6.0	8.0	10.0
79	6.0	8.0	10.0	106	6.0	8.0	10.0
80	6.0	8.0	10.0	107	6.0	8.0	10.0
81	6.0	8.0	10.0	108	6.0	8.0	10.0

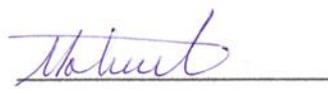
V. B MSc. Norma Esthela Molina Velázquez 

Figura No 51 (CONTINUACIÓN)

ANEXO No 28



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
LABORATORIO DE QUÍMICA Y FARMACIA
TRABAJO DE GRADUACIÓN
SECCIÓN MICROBIOLOGÍA



CALIBRACIÓN DE CILINDROS DE ACERO INOXIDABLE

Registrador Rosa Quinta Merles Alemán

Cantidad de cilindros a calibrar 234 (138)

Especificaciones:

Diámetro interno	6mm
Diámetro externo	8mm
Largo	10mm

Fecha de calibración 14 - Julio - 2010 Microbiología

Nº	Diámetro interno	Diámetro externo	Largo	Nº	Diámetro interno	Diámetro externo	Largo
109	6.0	8.0	10.0	134	6.0	8.0	10.0
110	6.0	8.0	10.0	137	6.0	8.0	10.0
111	6.0	8.0	10.0	138	6.0	8.0	10.0
112	6.0	8.0	10.0				
113	6.0	8.0	10.0				
114	6.0	8.0	10.0				
115	6.0	8.6	10.0				
116	6.0	8.0	10.0				
117	6.0	8.0	10.0				
118	6.0	8.0	10.0				
119	6.0	8.0	10.0				
120	6.0	8.0	10.0				
121	6.0	8.0	10.0				
122	6.0	8.0	10.0				
123	6.0	8.0	10.0				
124	6.0	8.0	10.0				
125	6.0	8.0	10.0				
126	6.0	8.0	10.0				
127	6.0	8.0	10.0				
128	6.0	8.0	10.0				
129	6.0	8.0	10.0				
130	6.0	8.0	10.0				
131	6.0	8.0	10.0				
132	6.0	8.0	10.0				
133	6.0	8.0	10.6				
134	6.0	8.0	10.0				
135	6.0	8.0	10.0				

V. B MSc. Norma Esthela Molina Velázquez 

Figura No 52 (CONTINUACIÓN)

ANEXO Nº 29



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
LABORATORIO DE QUÍMICA Y FARMACIA
TRABAJO DE GRADUACIÓN
SECCIÓN MICROBIOLOGÍA



CALIFICACIÓN DE LA INCUBADORA

Marca P Selecta.

Observador Rosa Aminta Merlos.

Termómetro utilizado -10 a 160 °C Rango de temperatura: 32-35 °C

Día de inicio del muestreo 15-Julio-2010 Día de finalización _____

REGISTRO DE TEMPERATURAS EN GRADOS CELSIUS

FECHA	NIVEL UNO		NIVEL DOS		NIVEL TRES	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
15-07-10	34 /	34 /	33 /	33 /	-	-
16-07-10	35 /	34 /	34 /	34 /		
19-07-10	34 /	34 /	34 /	34 /		
20-07-10	34 /	34 /	34 /	34 /		
21-07-10	33 *	34 /	33 *	34 /		
22-07-10	34 /	34 /	34 /	34 /		
23-07-10	34 /	34 /	34 /	34 /		
26-07-10	34 /	34 /	34 /	34 /		
27-07-10	34 /	34 /	34 /	34 /		
28-07-10	34 /	34 /	34 /	34 /		
29-07-10	34 /	34 /	34 /	34 /		
30-07-10	34 /	34 /	34 /	34 /		
12-08-10	34 /	34 /	34 /	34 /		
13-08-10	34 /	34 /	34 /	34 /		
17-08-10	34 /	34 /	34 /	34 /		

Observaciones: Rango de Temperatura 32-35 °C

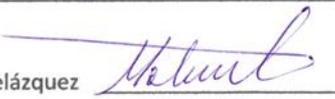
V.B. MSc. Norma Esthela Molina Velázquez 

Figura Nº 53 HOJA DE CALIFICACIÓN DE INCUBADORA

ANEXO Nº 30

No. Análisis	DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
1	Eficiencia del proceso de esterilización	No debe de presentar crecimiento bacteriano después de 24 horas de incubación.	Conforme
2	Eficiencia del proceso de esterilización	No debe de presentar crecimiento bacteriano después de 24 horas de incubación.	Conforme
3	Eficiencia del proceso de esterilización	No debe de presentar crecimiento bacteriano después de 24 horas de incubación.	Conforme

Observaciones: _____

Analista: Rosa Aminta Merlos Alemán Firma: [Firma]

V.B. Norma Esthela Molina Velázquez [Firma]

Figura Nº 54 HOJA DE RESULTADO DE CALIFICACIÓN DE ESTUFA

ANEXO Nº 31



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
LABORATORIO DE QUÍMICA Y FARMACIA
TRABAJO DE GRADUACIÓN
SECCIÓN MICROBIOLOGÍA



CALIFICACIÓN DEL PROCESO DE ESTERILIZACIÓN DE AUTOCLAVE

Marca de autoclave CENSAUDD

Analista Rosa Aminta Merlos

Bioindicador utilizado: Bacillos stearothermophilus Marca: SGM

Fecha de vencimiento: 04-2014 Lote: YTC013468

Fecha del Análisis 01, 08, 16-2011 Fecha de lectura del análisis 02, 08, 16-2011

No. Análisis	DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
1	Eficiencia del proceso de esterilización	No debe de presentar crecimiento bacteriano después de 24 horas de incubación.	<u>Conforme</u>
2	Eficiencia del proceso de esterilización	No debe de presentar crecimiento bacteriano después de 24 horas de incubación.	<u>Conforme</u>
3	Eficiencia del proceso de esterilización	No debe de presentar crecimiento bacteriano después de 24 horas de incubación.	<u>Conforme</u>

Observaciones: _____

Analista: Rosa Aminta Merlos Alemán Firma: Rosa Aminta Merlos

V.B Norma Esthela Molina Velázquez Norma Esthela Molina Velázquez

Figura Nº 55 HOJA DE RESULTADO DE CALIFICACIÓN DE AUTOCLAVE

ANEXO No 32



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
LABORATORIO DE QUÍMICA Y FARMACIA
TRABAJO DE GRADUACIÓN
SECCIÓN MICROBIOLOGÍA



CONTROL DE MEDIO DE CULTIVO

Nombre del medio de cultivo: Antibiotico No 11 / Medio de referencia: Agar Nutritivo
 Marca del medio de cultivo: HIMEDIA / Marca del medio referencia: OXOID
 Lote: 40046 / Lote: 544899
 Fecha de producción: -0- / Fecha de producción: -0-
 Fecha de vencimiento: Julio 2013 / Fecha de vencimiento: 02-2012
 Microorganismo de prueba: St. Epidermidis / Microorganismo de prueba: St. Epidermidis
 Fecha de obtención de la suspensión: 19-07-10 / Temperatura de incubación: 32-35°C (34°C)
 Fecha inicio del ensayo: 19-07-10 / Fecha finalización del ensayo: 23-07-10

Solución madre de Microorganismo de Prueba

Absorbancia 0.226 (59.4)

DILUCIÓN	Placa # 1 UFC/ml	Placa # 2 UFC/ml	Total de UFC/ml
1×10^{-6}	204	221	212.5 UFC
1×10^{-7}	31	27	29.0 UFC
1×10^{-8}	6	4	5 UFC
1×10^{-9}	-	-	-
1×10^{-10}	-	-	-

Dilución con aproximadamente 100 UFC/ml 10^{-7}

DILUCIÓN	Placa # 1 UFC/ml	Placa # 2 UFC/ml	Total de UFC/ml
10^{-7}	28	26	27 UFC
10^{-7}	31	30	30.5 UFC

$\bar{x} = 28.75$
 $\approx 29 \text{ UFC}$

$$C. \text{ promoción} = \frac{\text{UFC/ml medio de referencia}}{\text{UFC/ml medio a ensayar}} = \frac{29 \text{ UFC/ml } 0.1}{29 \text{ UFC/ml } 0.1}$$

Porcentaje = 1

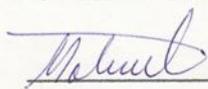
V. B. MSc. Norma Esthela Molina Velázquez 

Figura No 56 HOJA DE RESULTADO DE CONTROL DE MEDIO DE CULTIVO

ANEXO Nº 33

Ciudad universitaria 13 de junio de 2011

LIC. ELISEO ERNESTO AYALA MEJÍA
COORDINADOR DE LA ASIGNATURA
CONTROL DE CALIDAD DE MEDICAMENTOS HUMANOS Y VETERINARIOS I
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Estimado Licenciado

Reciba un cordial saludo esperando que sus proyectos profesionales y personales se desarrollen con éxito.

En esta oportunidad me dirijo a usted para hacerle la entrega de un material didáctico, que tiene como objetivo facilitar información teórica-práctica a los estudiantes de quinto año de la Facultad de Química y Farmacia, de la Universidad de El Salvador, en el desarrollo del ensayo de potencia.

El cual fue desarrollado a partir de los conocimientos adquiridos y ensayos realizados en el desarrollo de mi tesis denominada "IMPLEMENTACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO PARA EL ENSAYO DE POTENCIA PARA GENTAMICINA SULFATO SOLUCIÓN INYECTABLE POR EL METODO CILINDRO PLACA".

Esperando que este material sea de ayuda en el desarrollo de la clase de potencia de esta asignatura, me despido cordialmente.

Atentamente,


Br. Rosa Aminta Merlos Alemán


13-6-11

Figura Nº 57 HOJA DE ENTREGA DE MATERIAL DIDACTICO

ANEXO Nº 34

Ciudad universitaria 13 de junio de 2011

LICDA. NORMA ESTHELA MOLINA VELÁZQUEZ
COORDINADORA DE LA ASIGNATURA
MICROBIOLOGÍA APLICADA III
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Estimada Licenciada

Reciba un cordial saludo esperando que sus proyectos profesionales y personales se desarrollen con éxito.

En esta oportunidad me dirijo a usted para hacerle la entrega de un material didáctico, que tiene como objetivo facilitar información teórica-práctica a los estudiantes de quinto año de la Facultad de Química y Farmacia, de la Universidad de El Salvador, en el desarrollo del ensayo de potencia.

El cual fue desarrollado a partir de los conocimientos adquiridos y ensayos realizados en el desarrollo de mi tesis denominada "IMPLEMENTACION DE PARAMETROS DE DESEMPEÑO PARA EL ENSAYO DE POTENCIA PARA GENTAMICINA SULFATO SOLUCIÓN INYECTABLE POR EL METODO CILINDRO PLACA".

Esperando que este material sea de ayuda en el desarrollo de la clase de potencia de esta asignatura, me despido cordialmente.

Atentamente,

13/06/11
Recibido
Molina


Br. Rosa Aminta Merlos Alemán

Figura Nº 58 HOJA DE ENTREGA DE MATERIAL DIDACTICO