

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CLINDAMICINA SOLUCION ESTERIL  
PARA INYECCION (INNOVADOR) CONTRA LA DISPENSADA EN EL  
HOSPITAL NACIONAL DE NIÑOS BENJAMIN BLOOM

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR  
EVER LEONEL DOMINGUEZ GUARDADO  
FRANCISCO ANTONIO VALENCIA DE LA ROSA

PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

SEPTIEMBRE, 2013

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR.**

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

**SECRETARIA GENERAL.**

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

**FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA**

**DECANA.**

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

**SECRETARIO.**

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

## **COMITÉ DE TRABAJO DE GRADUACIÓN**

### **COORDINADORA GENERAL:**

Licenciada María Concepción Odette Rauda Acevedo.

### **ASESORAS DE ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS, COSMÉTICOS Y VETERINARIOS:**

Maestra Rocío Ruano de Sandoval.

Licenciada Zenia Ivonne Arévalo de Márquez.

### **DOCENTE DIRECTORA.**

Licenciada Zoila Isabel Sorto de Alarcón.





## INDICE

|  | <b>Pág.</b> |
|--|-------------|
| <b>RESUMEN</b>   |             |
| <b>CAPITULO I</b>  |             |
| <b>1.0 INTRODUCCION</b>  | xvi         |
| <b>CAPITULO II</b>   |             |
| <b>2.0 OBJETIVOS</b>   |             |
| 2.1 Objetivo General   |             |
| 2.2 Objetivos Específicos  |             |
| <b>CAPITULO III</b>  |             |
| <b>3.0 MARCO TEORICO</b>   |             |
| 3.1 Las Enfermedades Infecciosas                                     | 23          |
| 3.2 Generalidades de los Antibióticos                                | 23          |
| 3.3 Mecanismos de Acción de los Antibióticos                         | 24          |
| 3.4 Mecanismo de Resistencia   | 26          |
| 3.5 Usos inadecuados y errores más comunes en el uso de antibióticos | 26          |
| 3.6 Los principales grupos de antibióticos                           | 27          |
| 3.7 <i>Clindamicina</i>  | 30          |
| 3.8 Elegir la droga apropiada  | 31          |
| 3.9 Monografía Química   | 31          |
| 3.10 Preparaciones Inyectables                                       | 48          |

## **4.0 DISEÑO METODOLOGICO**

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 4.1 | Tipo de estudio                                | 75 |
| 4.2 | Métodos e Instrumentos de recolección de datos | 75 |
| 4.3 | Investigación de campo                         | 76 |
| 4.4 | Parte Experimental                             | 77 |

## **5.0 ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS**

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 5.1 | Análisis y Discusión de la Prueba de Apariencia   | 103 |
| 5.2 | Análisis y Discusión del Volumen de Inyección   | 104 |
| 5.3 | Análisis y Discusión de la Prueba de Densidad   | 106 |
| 5.4 | Análisis y Discusión de la Prueba de Identificación                                       | 107 |
| 5.5 | Análisis y Discusión de la Prueba de pH   | 109 |
| 5.6 | Análisis y Discusión de la Prueba Endotoxinas   | 111 |
| 5.7 | Análisis y Discusión de la Prueba de Esterilidad  | 112 |
| 5.8 | Análisis y Discusión del Contenido de <i>Clindamicina</i> y porcentaje sobre lo rotulado. | 113 |

## **CAPITULO VI**

### **6.0 CONCLUSIONES**

## **CAPITULO VII**

### **7.0 RECOMENDACIONES**

### **BIBLIOGRAFIA**

### **ANEXOS**

## INDICE DE CUADROS

| <b>Cuadro N°</b> |  | <b>Pág.</b> |
|------------------|--|-------------|
| <b>1</b>         | Actividad de las cefalosporinas en organismos Gram (+) y Gram (-)                              | 28          |
| <b>2</b>         | Volúmenes requeridos para la prueba de esterilidad por inoculación directa                     | 66          |
| <b>3</b>         | Selección de número de muestra para líquidos en la prueba de esterilidad.                      | 88          |
| <b>4</b>         | Especificaciones de la <i>Clindamicina</i> solución estéril para inyección USP 30              | 96          |
| <b>5</b>         | Tipos de envases y propiedades organolépticas del líquido del producto Innovador y el Nacional | 105         |
| <b>6</b>         | Resultados del análisis de Volumen deseado del producto innovador y el nacional                | 104         |
| <b>7</b>         | Datos obtenidos de la prueba de densidad para el producto innovador y el nacional              | 106         |
| <b>8</b>         | Resultados del análisis de la prueba de identificación del producto Innovador y el Nacional    | 107         |
| <b>9</b>         | Valores obtenidos en la prueba de pH del Producto Innovador y el Nacional.                     | 109         |
| <b>10</b>        | Valores Obtenidos en la prueba de endotoxinas del producto Innovador y el Nacional.            | 111         |



|           |  |     |
|-----------|--|-----|
| <b>11</b> | Resultados obtenidos en los análisis de esterilidad del Producto Innovador y el Nacional.  | 112 |
| <b>12</b> | Comparación de áreas obtenidas en el ensayo del producto Innovador y el Nacional contra el estándar de <i>clindamicina</i> fosfato | 113 |
| <b>13</b> | Comparación de porcentajes obtenidos en el ensayo del producto innovador y el nacional   | 114 |
| <b>14</b> | Comparación de <i>Clindamicina</i> por mL a partir del ensayo del producto innovador y el nacional                                 | 115 |

## INDICE DE FIGURAS

| <b>Figura N°</b> |   | <b>PAG.</b> |
|------------------|---|-------------|
| <b>1</b>         | Estructura Química de la Eritromicina   | 29          |
| <b>2</b>         | Estructura Química de la Clindamicina   | 30          |
| <b>3</b>         | Cromatograma del Producto Innovador   | 100         |
| <b>4</b>         | Cromatograma del Producto Nacional  | 101         |
| <b>5</b>         | Cromatograma del Estandar de Clindamicina   | 102         |
| <b>6</b>         | Grafica Comparativa de los datos de la Prueba de Volumen de Inyección del Producto Innovador contra el Producto Nacional. | 105         |
| <b>7</b>         | Grafica Comparativa de los datos de la Prueba de Densidad de Producto Innovador contra el Producto Nacional               | 107         |
| <b>8</b>         | Grafica Comparativa de los datos obtenidos en los Tiempos de Retención del Producto Innovador contra el Producto Nacional | 108         |
| <b>9</b>         | Grafica Comparativa de los datos de la Prueba de pH de Producto Innovado contra el Producto Nacional.                     | 110         |
| <b>10</b>        | Grafica Comparativa de los cromatogramas del Producto Innovador contra el Producto Nacional                               | 113         |
| <b>11</b>        | Comparacion de la concentración encontrada en el Producto Innovador contra el Producto Nacional                           | 115         |

## ABREVIATURAS

**g:** Gramo

**mg:** Miligramos

**IM:** Intramuscular

**IV:** Intravenoso

**USP:** Farmacopea de Estados Unidos (United States Pharmacopea)

**ER:** Estándar de referencia

**pH:** Porcentaje de Hidrógeno

**mL:** Mililitro

**nm:** Nanómetros

**cm:** centímetro

**μ:** Micra

**μg:** Microgramo

**°C:** Grados centígrados

**CFU:** Unidades Formadoras de Colonias

**BRP:** Farmacopea Británica

**IU:** Unidades internacionales

**EU:** Unidades de Endotoxinas

**BET:** Prueba de Endotoxinas bacterianas (Bacterialendoxins test)

**MVD:** Dilución máxima válida

**HPLC:** Cromatografía líquida de alta resolución (High performance

Liquid chromatography)

**MINSAL:** Ministerio de Salud

**UES:** Universidad de El Salvador

## RESUMEN

El presente trabajo se originó debido a que se reportaron fallas terapéuticas del producto clindamicina fosfato solución estéril para inyección en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom, las cuales se manifestaron a la junta de farmacovigilancia de dicho hospital, a consecuencia de este problema el producto clindamicina fosfato solución estéril para inyección fabricado en el país se sometió a diversas pruebas físico-químicas y microbiológicas, comparando así su resultado con el producto clindamicina solución estéril para inyección fabricado en el extranjero al cual llamamos innovador. Se tomaron muestras para el estudio, de frascos viales de clindamicina fosfato solución estéril para inyección con una concentración de 150 mg/mL en un frasco vial de 6mL.

El producto dispensado en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom, deberá de cumplir con todas las especificaciones que menciona la farmacopea de Los Estados Unidos en su edición 30.

Dentro las pruebas farmacopeicas más importantes se encuentran; Identificación, ensayo, pH, volumen de inyección, pruebas microbiológicas, además se incluyeron pruebas no farmacopeicas como; densidad, prueba de cierre, apariencia.

Se desarrollaron los análisis en 3 diferentes lugares; en la Universidad de Salvador se realizaron las pruebas no farmacopeicas, y en dos laboratorio privados las pruebas farmacopeicas.

Las muestras fueron evaluadas bajo las mismas condiciones en un periodo de tiempo determinado, obteniendo una serie de resultado que fueron tabulados y comparados entre sí, verificando que se encuentran dentro de los límites establecidos de la farmacopea de los Estados Unidos en su edición número 30; así como también en otros libros no farmacopeicos.

Se presentan los resultados del ensayo, identificación, pH, densidad, endotoxinas bacterianas y esterilidad con sus respectivas interpretaciones y discusión de resultados; así como también las conclusiones y recomendaciones con las que se culmina este trabajo y en futuras investigaciones puedan continuar el estudio a un nivel clínico.

**CAPITULO I**  
**INTRODUCCION**

## 1.0 INTRODUCCION

La calidad de los productos farmacéuticos es un factor importante para garantizar la recuperación de la salud, bienestar y calidad de vida de los individuos.

En el país como en otros, se están buscando alternativas para disminuir la carga financiera en referencia a los costos de los tratamientos a diversas enfermedades y sus alternativas han sido la producción de medicamentos genéricos, a fin de garantizar su eficacia y seguridad; el medicamento genérico deberá poseer en teoría las mismas propiedades que el medicamento innovador y al igual, deberá cumplir con las pruebas de control de calidad. Sin embargo a través del tiempo diversos sucesos han venido a disminuir el nivel de confianza en la utilización de medicamentos genéricos por parte de médicos del sector salud y de la población en general. Ya que existen diferencias terapéuticas entre estos medicamentos usados en el sector salud y los medicamentos innovadores.

Este estudio se enfocó en el análisis fisicoquímico y microbiológico de la Clindamicina fosfato solución estéril para inyección en concentración de 150mg/mL en un frasco vial de 6 mL, es un medicamento utilizado para



muchas infecciones y enfermedades causadas por diversos microorganismos<sup>xvii</sup> debido a que es un antibiótico de amplio espectro y este presentó varias terapias terapéuticas en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

Se realizó un estudio comparativo a dos medicamentos que contienen clindamicina fosfato, uno fabricado en el país y el proveniente del exterior, En dicho estudio se enfocó la calidad, basándose en los análisis que se describen en la monografía de la Farmacopea de los Estados Unidos en su edición 30, en un periodo del año 2008-2012 en los cuales los análisis se realizaron en la Universidad de El Salvador y en dos laboratorios privados dando como resultados que los dos medicamentos, aunque, se encontraban dentro de los límites establecidos, entre ambos datos se encontró una diferencia significativa, las muestras se trabajaron en condiciones iguales y se ocuparon los materiales, según lo establecido en sus monografías. El estudio comprobó que el producto hecho en nuestro país cumple con todas las pruebas farmacopeicas y no farmacopeicas, descritas para esta forma farmacéutica desde el punto de vista de calidad

Las pruebas que se realizaron son, apariencia, volumen de inyección densidad, prueba de cierre, identificación, pH, endotoxinas bacterianas, esterilidad y cuantificación de clindamicina; por eso cabe mencionar que los resultados de los análisis físico-químicos y microbiológicos no son pruebas suficientes para establecer que el medicamento pueda ejercer su efecto terapéutico, sino que es el comienzo de la investigación, debido a que se enfocó en comprobar que la

calidad de su fabricación cumple con las normas farmacopeicas y no farmacopeicas. La cantidad de su principio activo se encuentra dentro los límites propuestos por la bibliografía farmacopeica, La investigación de las causas terapéuticas reportadas en el Hospital Nacional de niños Benjamín Bloom, se puede seguir por medios de otros estudios por ejemplo, estudios de bioequivalencia y estabilidad, en donde se puede utilizar como base los análisis y resultados de esta investigación, que demuestra que el producto, desde el aspecto físico-químico y microbiológico, se encuentra en óptimas condiciones.

## **CAPITULO II**

### **OBJETIVOS**

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Estudiar la Comparación de la Clindamicina solución estéril para inyección (Innovador) contra la dispensada en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.

- 2.1.1 Verificar la calidad según especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos edición 30, físico – químico, esterilidad y endotoxinas bacterianas, de la clindamicina solución estéril para inyección líder en el mercado.
- 2.2.2 Verificar la calidad según especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos edición 30, físico – químico, esterilidad y endotoxina bacterianas de la clindamicina solución estéril para inyección dispensada en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom.
- 2.2.3 Comparar los resultados obtenidos de la clindamicina solución estéril para inyección del innovador y los resultados en las muestras de los productos dispensados en el Hospital Nacional de Niños Benjamín

Bloom.

- 2.2.4 Proporcionar los resultados obtenidos al jefe de la farmacia del Hospital Benjamín Bloom, quien reportara a la Unidad Técnica de medicamentos e insumos médicos y a la junta de Fármacos y Materiales del hospital.

## **2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

**CAPITULO III**

**MARCO TEORICO**



### 3.0 MARCO TEORICO

#### 3.1 Las enfermedades infecciosas <sup>(1)</sup>:

Las enfermedades de tipo infecciosas han causado la muerte de millones de seres humanos a lo largo de la historia de la humanidad. Con el descubrimiento de los antibióticos, esta realidad comenzó a ser modificada y, en los años ochenta del siglo XX, podía hablarse de una victoria prácticamente total frente a las infecciones por microorganismos.

En la actualidad, las enfermedades infecciosas muestran una tendencia emergente, por lo que el conocimiento de los antibióticos, a quienes se prefiere denominar en la actualidad como drogas antibacterianas, resulta de suma importancia para los interesados en los temas de salud. <sup>(1)</sup>

#### 3.2 Generalidades de los Antibióticos <sup>(1)</sup>:

El origen de la palabra antibiótico es griego: *anti* significa contra, y *bios*, vida. Los antibacterianos son sustancias naturales, semisintéticas o sintéticas, que a concentraciones bajas, inhiben el crecimiento o provocan la muerte de las bacterias. Pero popularmente se les conoce a todos como antibióticos, aunque en realidad, estos son únicamente las sustancias producidas de forma natural por algunos microorganismos.



Es de mucha importancia también mencionar que al seleccionar un antibiótico, han de tenerse en cuenta diferentes factores que van a tener una influencia directa en su capacidad para ser eficaz. (3)

### **3.3 Mecanismos de acción de los Antibióticos (1):**

La acción del agente antibacteriano es lograda mediante los siguientes mecanismos de acción:

#### **3.3.1. Inhibición de la síntesis de la pared celular**

- Penicilinas
- Cefalosporinas
- Monobactamas
- Carbapenemes
- Peptídicos
- Otros

#### **3.3.2. Inhibición de la síntesis de proteínas**

- Tetraciclinas
- Aminoglucósidos
- Anfenicoles
- Lincosamidas

- Macrólidos
- Otros

### 3.3.3 Inhibición del metabolismo bacteriano

- Sulfonamidas
- Trimetoprim

### 3.3.4. Inhibición de la actividad o síntesis del ácido nucleico

- Quinolonas
- Ansamicinas
- Sulfonamidas
- Diaminopirimidinas
- Otros

### 3.3.5. Alteraciones en la permeabilidad de la membrana celular

- Polienos
- Polimixinas
- Imidazoles

Con cualquiera de estas acciones o con una combinación de ellas, el germen es incapaz de sobrevivir.

### **3.4 Mecanismos de Resistencia <sup>(1)</sup>:**

Un germen puede desarrollar resistencia ante un antibiótico. Esto quiere decir que será incapaz de dañar a dicho germen. La resistencia puede desarrollarse por mutación de los genes residentes o por adquisición de nuevos genes:

- Inactivación del compuesto
- Activación o sobreproducción del blanco antibacteriano
- Disminución de la permeabilidad de la célula al agente
- Eliminación activa del compuesto del interior de la célula

### **3.5 Usos Inadecuados y errores más comunes en el Uso de los**

#### **Antibióticos <sup>(12)</sup>:**

- Elección de un antibiótico ineficaz
- Dosis inadecuadas o excesivas
- Empleo en inyecciones como las enfermedades víricas no complicadas
- Vías de administración incorrectas
- Continuación de su uso tras el desarrollo de resistencias bacterianas
- Continuación de su empleo en presencia de una reacción grave tóxica o alérgica
- Interrupción prematura de un tratamiento eficaz
- No cambiar la quimioterapia cuando aparecen sobre inyecciones por microorganismos resistentes
- Uso de combinaciones inapropiadas

- Confianza excesiva en la quimioterapia o la profilaxis hasta el extremo de excluir una intervención quirúrgica.

### **3.6 Los principales grupos de antibióticos <sup>(1)</sup>:**

Presentaremos brevemente los principales grupos de antibióticos, sus principales integrantes, indicaciones más comunes, dosis y principales precauciones.

#### **3.6.1 Los Beta Lactámicos <sup>(1)</sup>:**

Todas las penicilinas tienen básicamente la estructura del ácido 6-aminopenicilánico que tiene un anillo de tiazolina, con un grupo amino libre, unido a un anillo  $\beta$ -lactámico.

#### **3.6.2 Las Penicilinas <sup>(1)</sup>:**

Es uno de los grupos más conocidos, pues incluye a las penicilinas y algunos de sus derivados, las cefalosporinas y otros.

- Penicilina G
- Penicilina V
- Penicilinas Resistentes A La Penicilinasa
- Penicilinas De 2da Generación
- Penicilinas De 3ra Generación
- Penicilinas De 4ta Generación

- Combinación De Penicilinas-Inhibidores
- Betalactamasas.

### 3.6.3 Las Cefalosporinas <sup>(1)</sup>:

- 1° Generación
- 2° Generación
- 3° Generación

**Cuadro N° 1:** Actividad de las cefalosporinas en organismos Gram (+) y Gram (-)

| <b>GENERACIÓN</b> | <b>GRAM +</b> | <b>GRAM -</b> |
|-------------------|---------------|---------------|
| 1RA GENERAC.      | +++           | +             |
| 2DA GENERAC.      | ++            | ++            |
| 3RA GENERAC.      | +             | +++           |

### 3.6.4. Otros Beta Lactámicos <sup>(1)</sup>:

- Monobactamicos (Antibiótico Betalactamicos Monociclicos)
- Los Aminoglucósidos
- Cloranfenicol
- Vancomicina
- Quinolonas

### 3.6.5. Otros Antimicrobiales <sup>(1)</sup>:

- Antifungales
- Antivirales

### 3.6.6. Macrolidos <sup>(1)</sup>:

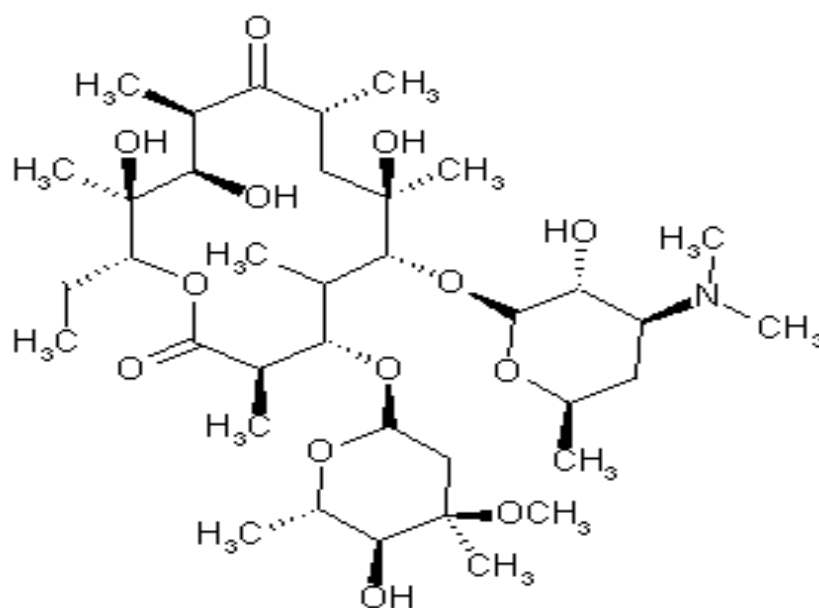


Figura N°1 Estructura Química de Eritromicina <sup>(8)</sup>

Son compuestos de 14, 15 o 16 átomos de carbono unidos en una molécula circular, central y compleja, unida a varias cadenas laterales. <sup>(1)</sup>

### 3.7. *Clindamicina* <sup>(10)</sup>:

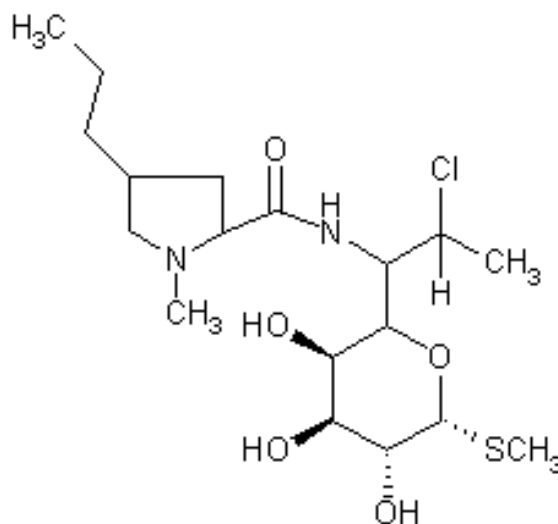


Figura N°2: Estructura Química de *Clindamicina*. <sup>(9)</sup>

- *S. aureus*, *S. neumoniae*, estreptococos grupo A y otros (excepto *enterococo*), *bacteroides*, *fusobacterium*, *estrepto anaerobios*, *clostridium perfringens* y *tetanii*.
- Puede producir severa *colitis pseudomenbranosa*
- Solo para inyecciones que no pueden ser tratadas adecuadamente por otros agentes.
- Dosis: oral 600 - 1200 mg dosis diaria, en inyecciones severas 1800 mg diarios.
- Parenteral: IM 1.2 - 2.4 g diarios
- IV 1.8 - 3.0 g diarios

- Usar con gran precaución o no usar en pacientes con enfermedad del colon. Si aparece diarrea, suspender.

### 3.8. Elegir La Droga Apropriada <sup>(1)</sup>:

Los médicos pueden determinar generalmente el tipo de organismo responsable de ocasionar las infecciones más frecuentemente vistas y saber que la clase de antibiótico será el más efectivo en combatirlo. A veces el agente que ocasiona la enfermedad no es conocido. En este suceso una cultura desde la infección se examina bajo un microscopio para identificar el organismo invasor. Los resultados del trabajo de laboratorio permiten que el médico prescriba el antibiótico más efectivo contra la enfermedad específica ocasionado por bacterias.

### 3.9. Monografía Química <sup>(7)</sup>:

Monografía según Farmacopea de los Estados Unidos USP 30 de:

#### 3.9.1 CLINDAMICINA FOSFATO (Materia Prima)

Formula:  $C_{18}H_{34}ClN_2O_8PS$

Peso Molecular: 504.97 g/mol

Nomenclatura: L – threo- $\infty$ - D- galacto- Octopyranoside, methyl 7-chloro- 6,7,8- trideoxy-6-[(1-methyl-4-propyl-2-pyrrolidinyl)carbonyl]amino]-1-thio-, 2-(dihydrogen phosphate), (2S-trans)- Methyl 7- cholo- 6-(-1-methyl-trans-4-propyl-L-2-pyrrolidinecarboxamido)-1-thio-L-threo- $\infty$ - D- galacto- octopyranoside



2-(dihydrogen phosphate) [24729-9-2]

«La *Clindamicina* Fosfato tiene una potencia de equivalente a no menos de 758µg de *clindamicina* (C<sub>18</sub>H<sub>33</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S) por mg calculado en una base anhidra  
»

Envasado y almacenamiento: Conservar en contenedores impermeables.

Etiquetado: Donde el uso es destinado en las preparaciones en forma de dosificación de inyectables, la etiqueta debe de ser estéril o debe ser sometida a un proceso durante la preparación de la forma de dosificación de inyectables.

Estándares de Referencia USP

USP Fosfato de *Clindamicina* RS, USP Endotoxinas RS

Identificación: Absorción Infrarroja. El espécimen a prueba: A sequedad

Cristalinidad Conocer los requerimientos.

pH entre 3,5 y 4,5 en una solución que contiene 10 mg por mL.

Agua, método 1: No más del 6.0%

Otros requerimientos: La etiqueta del producto *Clindamicina* fosfato es estéril, esos son requerimientos que se conocen por la Esterilidad y Endotoxinas Bacteriana bajo *Clindamicina* para inyección.

### 3.9.2 CLINDAMICINA INYECCION.

La Inyección de *Clindamicina* contiene una cantidad de Fosfato de *Clindamicina* en Agua para Inyección equivalente de a no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de *clindamicina* ( $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$ ). Puede congelarse

Envasado y almacenamiento: Conservar en envases monodosis o multidosis, preferentemente de vidrio tipo I o en envases de plástico adecuados.

Etiquetado: Cumple con los requisitos para *Etiquetado de Inyectable*. Cuando se mantiene congelada, le etiqueta indica que se debe descongelar justo antes de su uso, describe las condiciones de almacenamiento adecuado de la solución resultante e indica que la solución no debe congelarse nuevamente.

Estándares de referencia USP (11): ER Alcohol Bencílico USP, ER Fosfato de *Clindamicina* USP, ER Endotoxinas USP.

Identificación: El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma de la preparación de valoración se corresponde con el de la preparación estándar según se obtiene en la valoración.

Endotoxinas bacterianas: No contiene más de 0,58 Unidades USP de Endotoxinas por mg de *clindamicina*.

pH: Entre 5,5 y 7,0

Partículas: Cumple con los requisitos para inyecciones de pequeño volumen.

Otros requisitos: Cumple con los requisitos en Inyectables.

Valoración

Fase móvil: Disolver 10,54 g de fosfato monobásico de potasio en 775 mL de agua y ajustar con ácido fosfórico a un pH de 2,5. Agregar 225 mL de acetonitrilo, mezclar y filtrar. Hacer ajustes si fuera necesario (Ver Aptitud del Sistema de Cromatografía. [Nota--- asegurarse de la concentración de acetonitrilo en la fase móvil, no es menor de 22% ni mayor de 25% para mantener el orden de la elución correcta.]

Preparación de estándar: Disolver una cantidad pesada con exactitud de ER Fosfato de Clindamicina USP en fase móvil, para obtener una solución con una concentración conocida de aproximadamente 0,24 mg / mL.

Preparación de valoración: Disolver una cantidad pesada de inyección medido con exactitud que equivalga aproximadamente a 300 mg de *clindamicina*, a un matraz volumétrico de 100,0mL, diluir a un volumen con fase móvil y mezclar. Trasferir 7,0 mL de la solución resultante a un

matraz volumétrico de 100,0 mL, diluir a volumen con fase móvil y mezclar

Solución de resolución: Preparar una solución de ER Alcohol Bencílico USP en fase móvil con una concentración de aproximadamente 0,1 mg / mL.

Agregar aproximadamente 25 mL de esta solución a un matraz volumétrico de 100,0 mL que contenga aproximadamente 25 mg de ER Fosfato de Clindamicina USP, diluir a volumen con fase móvil y mezclar.

Sistema Cromatográfica: Equipar un Cromatografo de líquidos con un detector a 210 nm y una columna de 4,6 mm por 25 cm rellena con material L7. La velocidad del flujo es de aproximadamente de 1mL por minuto. La resolución, R, entre el Fosfato de *Clindamicina* y el Alcohol Bencílico no es menor del 2,0. Los tiempos de retención son 1,0 para Fosfato de Clindamicina y aproximadamente 1,2 para el Alcohol Bencílico. Cromatografiar la solución estándar y registrar el cromatograma según se indica en el procedimiento: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no es más de 2,5 %.

Procedimiento: Inyectar por separado en el cromatografo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µg) de la preparación estándar y de la preparación de valoración, registrar los cromatogramas y medir las respuestas correspondientes a los picos principales. Calcular la

cantidad, en mg de  $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$  en cada en cada mL de la inyección tomada, por formula:

$$(10/7) (CP/V) (r_u / r_s)$$

En donde C es la concentración en mg / mL de ER Fosfato de *Clindamicina* USP en la preparación estándar; P es la potencia, en  $\mu$ g de *clindamicina* por mg, de ER Fosfato de *Clindamicina* USP; V es el volumen en mL de inyección tomado;  $r_u$  y  $r_s$  son las respuestas correspondientes a los picos de Fosfato de *Clindamicina* obtenidos a partir de la preparación de valoración y la preparación del estándar respectivamente.

### 3.9.3. MONOGRAFIA FARMACOLOGICA <sup>(10)</sup>

***Clindamicina***: pertenece, junto a la lincomicina, al grupo de las lincosaminas.

Es un derivado sintético de la lincomicina, que se obtuvo en 1966. Por su mayor actividad, mejor absorción por vía gastrointestinal y espectro más amplio, sustituyó a la anterior en la práctica clínica.

Inicialmente se introdujo como antiestafilococo. Posteriormente se vio que el riesgo de colitis por *Clostridium difficile* ha limitado su uso, es un antibiótico útil en el tratamiento de infecciones severas por gérmenes anaerobios.

Las lincosaminas están constituidas por un ácido aminado (metilprolina) y un azúcar (piranosa) unidos por una amida. En la *clindamicina* se sustituye el hidroxilo en posición 7 por un átomo de cloro. <sup>(12)</sup>

#### 3.9.3.1. Mecanismo De Acción <sup>(10)</sup>:

Aunque se considera que la *clindamicina* es bacteriostática, se ha demostrado su acción bactericida contra algunas cepas de *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Bacteroides*. Actúa inhibiendo la síntesis proteica bacteriana al unirse a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano, impidiendo la iniciación de la cadena peptídica. El sitio de unión en el ribosoma es el mismo que para los macrólidos y el cloranfenicol, inhibiendo sus acciones por competencia. Por lo tanto estos agentes son antagónicos y no deben ser usados concomitantemente. *In vitro* se ha demostrado que inhiben la producción de toxinas estafilocócicas asociadas al síndrome de shock tóxico y previenen la producción de biofilms. Al alterar las moléculas de superficie, *clindamicina* facilita la opsonización, fagocitosis y muerte intracelular de bacterias, incluso en concentraciones subinhibitorias. La consecuente alteración de la pared bacteriana disminuye la capacidad de adherencia de gérmenes como *Staphylococcus aureus* a las células huésped y facilita su destrucción.

La *clindamicina* ejerce un efecto pos antibiótico duradero, contra algunas bacterias susceptibles, quizá por la persistencia del fármaco en el sitio de unión ribosómica.

### 3.9.3.2 Farmacocinética <sup>(1, 3,10)</sup>:

**Absorción:** En forma de clorhidrato (sal) o éster de palmitato se absorbe 90% por vía digestiva. Los alimentos no disminuyen su absorción, sólo la pueden retrasar.

**Distribución:** La misma es amplia, alcanza concentraciones clínicamente útiles en muchos tejidos y fluidos corporales, entre los que se incluyen: hueso, líquido sinovial, pleura y peritoneo. Atraviesa con facilidad la barrera placentaria, pero no atraviesa la barrera hematoencefálica, aun con las meninges inflamadas.

Es transportada activamente al interior de polimorfonucleares y macrófagos, donde alcanza altas concentraciones. Se acumula en polimorfonucleares, macrófagos alveolares y abscesos. **Metabolización y eliminación:** *Clindamicina* es metabolizada en el hígado y los productos resultantes tienen una actividad variable. *Clindamicina* y sus metabolitos se eliminan por vía biliar y en menor grado por vía renal. No es eliminada por hemodiálisis ni diálisis peritoneal.

La existencia de circulación enterohepática de clindamicina y sus metabolitos determina una presencia duradera del fármaco en las heces. En consecuencia los cambios de la flora intestinal pueden persistir 2 semanas después que se interrumpe la medicación, lo que se asocia con la colitis

La vida media es de 2 a 2,5 horas, pero se prolonga a 8 a 12 horas en caso de disfunción hepática, por lo que se necesita ajustar la dosis en pacientes con insuficiencia hepática moderada o severa, o insuficiencia hepática y renal. En cambio no sería necesario ajustar la dosis cuando la insuficiencia renal es aislada.

#### 3.9.3.3. Actividad Antimicrobiana <sup>(10)</sup>

La *clindamicina* es activa contra casi todos los anaerobios, muchos de los cocos Gram positivos y algunos protozoarios.

##### Anaerobios:

Muestra actividad contra:

- Casi todos los cocos Gram positivos: especies de *Peptostreptococcus* y *Peptococcus Níger*, existiendo cepas resistentes
- Bacilos Gram positivos no esporulados: especies de *Actinomyces Propionibacterium* y *Eubacterium*, *Clostridium* (exceptuando *C. difficile*)



y un notable porcentaje de algunas especies de *Clostridium* no *perfringens*).

- Bacilos gramnegativos: *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas* y especies de *Fusobacterium*. Se han aislado cepas resistentes de *Bacteroides fragilis*.

Aerobios:

- Cocos grampositivos: Es activa frente a *Streptococcus*, incluyendo *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A (*S. pyogenes*), B (*S. agalactiae*), C y G, *S. bovis*, *Streptococcus* microaerófilos y casi todas las cepas de *S. pneumoniae* y *S. viridans*. Todos los *Enterococcus* son resistentes.

Además es activa frente a *S. aureus* meticilinosensible y *S. epidermidis*, debiéndose comprobar esto mediante el estudio de la sensibilidad. Las cepas de *Staphylococcus* resistentes a meticilina suelen serlo también a clindamicina.

- Bacilos grampositivos: Es activa frente a *Corynebacterium* spp., *Nocardia*, *Actinomyces* y *Bacillus anthracis*.

Los bacilos gramnegativos aerobios son resistentes a la acción de la *clindamicina*, a excepción de *Campylobacter fetus* y algunas cepas de *Haemophilus influenzae*.

Protozoarios: Usada en combinación con otros agentes es activa contra algunos protozoarios patógenos como *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium* y especies de *Babesia*.

Otros microorganismos: También presenta alguna actividad contra *P.carinii*, *Leptospira* spp. Y *Chlamydia* spp.

#### 3.9.3.4 Mecanismos de Resistencia <sup>(3,10)</sup>:

El mecanismo de resistencia es parecido al de los macrólidos. La resistencia bacteriana se debe fundamentalmente a la alteración del sitio "blanco". Se ha observado resistencia transferible mediada por plásmidos en *B.fragilis*.

En raros casos los cocos grampositivos pueden inactivar la clindamicina por mecanismos enzimáticos, hecho que parece no tener importancia clínica.

#### 3.9.3.5 Usos Terapéuticos <sup>(2)</sup>:

La *clindamicina* es una alternativa útil a los betalactámicos en infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. Debe ser considerada en caso de infecciones por gérmenes anaerobios donde puedan estar involucrados *B. fragilis* u otros anaerobios resistentes a penicilina; siempre que no estén localizados a nivel del sistema nervioso central. Se usa para el tratamiento del acné y asociada a la pirimetamina en el tratamiento de la toxoplasmosis.

-Inyecciones intraabdominales:

En combinación con antibióticos activos contra bacilos gramnegativos, pueden ser usados en diverticulitis, infecciones del árbol biliar, infecciones por fístulas intestinales, absceso hepático u otros abscesos intraabdominales, traumatismos penetrantes.

-Infecciones del aparato genital femenino:

También en asociación con agentes activos contra bacilos gramnegativos son útiles en enfermedad inflamatoria pélvica, absceso tubo ovárico, aborto séptico, endometritis postparto, etc.

- Infecciones de vías respiratorias altas. Hay situaciones en las que podría considerarse su uso: a) en el tratamiento de sinusitis u otitis crónica, b) en faringitis bacteriana recurrente o resistente a los regímenes habituales, c) como alternativa de la penicilina, en infecciones por gérmenes de la boca, donde hay anaerobios.

- Infecciones pleuropulmonares. Puede ser una alternativa útil en casos de infecciones pleuropulmonares donde participan anaerobios, como neumonías por broncoaspiración, abscesos y empiemas, en caso de pacientes alérgicos a la penicilina o que no mejoran con ella.

- Pie diabético e infecciones de úlceras de decúbito. Estas infecciones en general tienen un origen bacteriano mixto donde participan: cocos grampositivos aeróbicos, bacilos gramnegativos aeróbicos y anaerobios, por lo que debe usarse en combinación con antimicrobianos que tengan actividad contra bacilos gramnegativos aerobios. Debe diferenciarse infección de contaminación bacteriana y no usar antibióticos si no hay signos de infección: secreción purulenta, enrojecimiento de tejidos vecinos, fiebre. En ausencia de estas manifestaciones la conducta es de lavar con abundante suero para barrer por arrastre mecánico los gérmenes y las secreciones que son el caldo de cultivo.

Infecciones de piel y tejidos blandos como: celulitis, forunculosis, ántrax, foliculitis, impétigo, infecciones por *Clostridium perfringens*. La combinación de penicilina y clindamicina, puede ser superior a la monoterapia en infecciones por este último germen. Para el caso de infecciones graves por *Streptococcus* beta-hemolítico (fascitis necrotizante, shock tóxico) se recomienda su uso asociada o no a penicilina. Dado que inhibe la síntesis proteica, disminuiría más

rápidamente la producción de toxinas que se encuentran involucradas en estas entidades.

- Osteomielitis. Asociada a otros agentes es útil para tratar osteomielitis causadas por cepas sensibles de *S. aureus* o anaerobios. Tiene particular utilidad contra infecciones óseas relacionadas con el pie diabético y con úlceras de decúbito.

- Cirugía de cabeza y cuello. Para disminuir la incidencia de complicaciones infecciosas locales relacionadas con esta cirugía, puede usarse clindamicina en asociación con otros antibióticos.

- Vaginosis bacteriana. Clindamicina oral y tópica, es una alternativa del metronidazol en esta entidad.

- Acné. La solución tópica de clindamicina es útil para tratar el acné y la rosácea.

- Toxoplasmosis. Cuando el paciente es alérgico a las sulfas, asociada a pirimetamina es una alternativa del plan de elección de pirimetamina-sulfadiazina.

- Pneumocistosis. Combinada con primaquina, es una alternativa del plan de elección de trimetoprim/sulfametoxazol, cuando el enfermo es alérgico a las sulfas.

### 3.9.3.6. Reacciones Adversas <sup>(10, 13)</sup>:

Las más comunes son: Diarrea y manifestaciones de hipersensibilidad.

Efectos gastrointestinales: El más común es la diarrea, cuya incidencia publicada varía entre 2 y 20%. La complicación más temible es la colitis pseudomembranosa, producida por *C. difficile*, que puede ser mortal. La colitis pseudomembranosa limita el uso de la clindamicina a aquellas situaciones en que ésta tiene una indicación precisa. Su incidencia oscila entre 0,01 y 0,1%. Puede surgir durante la administración, a veces a muy corto plazo o después que se interrumpió el tratamiento, semanas más tarde. El tratamiento consiste en suspender la clindamicina y en casos graves es necesario administrar metronidazol (500 mg c/8-12 h), reservando la vancomicina para cuando aquella medicación fracasa. Otros efectos colaterales son: anorexia, vómitos, flatulencia, distensión abdominal y en raras ocasiones aumento del nivel de transaminasas.

### 3.9.3.7. Reacciones de hipersensibilidad:

- Erupción morbiliforme generalizada, de leve a moderada
- Urticaria-Fiebre medicamentosa
- Eosinofilia y eritema multiforme reacciones locales

- Tromboflebitis luego del goteo i. v.
- Dermatitis de contacto, luego de una aplicación tópica

#### 3.9.3.8. Reacciones adversas poco frecuente:

- Hematológicas: neutropenia, trombocitopenia
- Neuromusculares: Posee propiedades de bloqueo neuromuscular por lo que puede potenciar la acción de otros agentes con propiedades similares. No se recomienda su uso en la embarazada, así como tampoco si hay hipersensibilidad a la droga.

#### 3.9.3.9. Interacciones Medicamentosas <sup>(1,2)</sup>:

Con sustancias cicatrizantes por lo ya expuesto. Teofilina, peligro de intoxicación, con antiácidos: disminuyen su absorción.

Dosis y vías de administración: En el adulto, las dosis recomendadas por vía oral. Son de 150 a 300 mg cada 6 horas.

Por vía i.v. la dosis varía según la gravedad de la infección y oscila entre 600 y 2.400 mg/día, dividido en 3 o 4 dosis.

Cuando se administra por esta última vía, se debe pasar en infusión de 30 a 40 minutos, no mezclando en la misma solución ampicilina,

aminofilina, fenilhidantoína, barbitúricos, gluconato de calcio o sulfato de magnesio.

Ajustar la dosis en caso de insuficiencia hepatocítica mediana o severa o insuficiencia hepatocítica asociada a insuficiencia renal. Si la disfunción hepática es moderada o severa, reducir la dosis a la mitad. Si además tiene insuficiencia renal, la dosis es aún menor.

### 3.10. Preparaciones Inyectables <sup>(10,13)</sup>:

Son las soluciones, suspensiones o emulsiones estériles, que contiene uno o más fármacos, preparados por disolución o suspensión del principio activo y otros aditivos en agua para inyección o en un líquido no acuosos o en una mezcla de líquidos miscibles entre sí, envasados en recipientes adecuados, que se destinan para ser introducidas al organismo por vía parenteral.

#### 3.10.1. Diferentes Formas de Administración <sup>(1,2)</sup>:

- Vía subcutánea.- En la piel
- Vía intradérmica.- Dentro de la piel
- Vía intramuscular.- Músculo



- Vía intravenosa.- Vena
- Vía intrarraquídea. – En la raquea
- Vía epidural.- a través de una membrana
- Vía intra articular.- en las articulaciones

### 3.10.2. Importancia <sup>(1,2)</sup>:

Cuando se necesita la acción inmediata de un medicamento, se logra por la acción intravenosa. La respuesta terapéutica de un medicamento se controla más fácilmente con su administración parenteral.

### 3.10.3. Desventajas de la forma farmacéutica parenteral:

- Esta forma tiene requerimientos de asepsia, el riesgo de toxicidad tisular por irritación local, el factor dolor, real o psicológico y la dificultad de corregir un error que pueda cometerse.
- Las inyecciones destinadas a la administración intraocular, intraespinal, intracisternal e intractecal requieren los estándares de pureza más altos por la sensibilidad de los tejidos a las sustancias irritantes y tóxicas.

### 3.10.4. Las Preparaciones Inyectables se agrupan según la Clasificación

siguiente:

- Medicamentos líquidos, soluciones o emulsiones previamente preparadas para uso inyectable.
- Sólidos secos o líquidos concentrados, que no contienen reguladores, diluyentes ni otras sustancias, que al agregarles disolventes apropiados, producen fácilmente soluciones que satisfacen todas las especificaciones de las preparaciones inyectables
- Sólidos o líquidos que contienen uno o más reguladores u otras sustancias.
- Sólidos a los que se les agregan algún medio líquido adecuado, para obtener suspensiones homogéneas, que no se destinan para ser administradas por vía intravenosa o intrarraquídea.
- Sólidos secos, a los que se agregan algún vehículo adecuado para obtener suspensiones homogéneas, que satisfacen todas las especificaciones para suspensiones estériles.

### 3.10.5. Características de las Soluciones Parenterales:

- En general, su pH debe ser cercano a la neutralidad, aunque en ocasiones varía, según la preparación de que se trate, o para permitir su conservación.
- Debe de ser isotónicas, para lo cual se pueden agregar sustancias salinas u orgánicas, a fin de igualar la tensión osmótica de los diversos líquidos del organismo
- Las soluciones inyectables oleosas deben ser límpidas a 18 °C de temperatura.
- Las emulsiones inyectables, preparadas antes o en el momento de ser utilizadas, no deben presentar separación de fases y debe ser homogéneas por simple agitación.
- Las suspensiones inyectables preparadas antes o en el momento de ser utilizadas, pueden mostrar sedimentación, pero deben ser homogéneas por simple agitación y la suspensión debe permanecer así durante su aplicación.
- Estas inyecciones pueden ser administradas por vía subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intrarraquidea, epidural e intraarticular. La naturaleza del producto determinara la vía de administración particular que puede emplearse. Por el contrario, la vía de administración deseada impondrá exigencias a la formula.

- Entre las desventajas de esta forma de administración se hallan el requerimiento de asepsia, el riesgo de toxicidad tisular por irritación local, el factor dolor, real o psicológico y la dificultad para corregir un error que pueda cometerse.

### **3.11. FUNDAMENTOS DE METODOS DE ANALISIS FISICO-QUIMICOS PARA INYECTABLES.**

#### 3.11.1. Fundamento de la prueba de Apariencia <sup>(4)</sup>

Descripción de las características o conjunto de características físicas que parece poseer la solución inyectable. Según el libro de “Control of physical properties in pharmaceutical forms” de Bruno M. Colombo, divide en 3 categorías, la cual para este tipo de forma farmacéutica es la categoría B, la dosificación de los cuales no se puede retirar del recipiente inmediata sin modificar algunas de las características. Y propone como métodos de prueba observación visual del contenedor (tipo de contenedor) y contenido (color, homogeneidad del granulo y partículas extrañas).

#### 3.11.2. Fundamentos de la Prueba de Volumen de Inyectable <sup>(4,7)</sup>

Cada envase de una inyección se llena con suficiente exceso sobre el volumen declarado o sobre el volumen que se deba extraer. Por tal

motivo debe de verificar el volumen que posea cada frasco, para verificar que contenga el volumen necesario para obtener las dosis estipuladas por la etiqueta del vial. La farmacopea de los Estados Unidos en su edición número 30°, en el apartado de Inyectable <1>, propone una prueba llamada Determinación de Volumen de Inyectable, donde describe como realizar dicha prueba.

### 3.11.3. Fundamentos de la prueba de Densidad <sup>(4)</sup>

Se utiliza para determinar la cantidad de masa contenida en un determinado volumen. La densidad absoluta o real mide la masa por unidad de volumen, y es la que generalmente se entiende por densidad. Y la densidad relativa o gravedad específica que compara la densidad de una sustancia con la del agua; está definida como el peso unitario del material dividido por el peso unitario del agua destilada a 25°C. Se calcula con la siguiente fórmula:

Densidad relativa = densidad de la sustancia / densidad del agua.

Con un picnómetro de capacidad de 10.0 mL ambientado a una temperatura de 25° C y previamente pesado, se llena en su totalidad, posteriormente se pesa en una balanza analítica, teniendo el cuidado que el lugar donde se realice la medición posea una temperatura controlada a 25°C.

#### 3.11.4. Fundamento para la prueba de Cierre <sup>(4)</sup>

El cierre es la parte que sella al contenedor de inmediato en el cual el líquido, el polvo o el gránulo, se encuentran contenidos. Los contenedores duros (vidrio, plástico o metal) necesitan sellos que cumplan los siguientes requerimientos:

Los sellos deben de ser bien ajustados para no permitir que el contenido salga y que las sustancias extrañas no entren al contenedor.

El sello debe de permitir al consumidor retirar fácilmente el contenido abriendo el contenedor o extrayendo el contenido con la ayuda de una jeringa.

El sistema de sellado debe de asegurar al consumidor que el sello no ha estado abierto antes de la primera vez de empleo.

Categoría C: Viales

Método:

Materiales.

10 viales de muestra

Una aguja de 5.0 mL

Beaker 1000 mL con agua.

Procedimiento:

Con la ayuda de una jeringa de 5.0 mL se perforo la parte central del sello de hule y se repitió la operación tres veces más, e igual a los demás viales restantes. Luego se introduce por separado cada vial en el beaker con agua. No menos de 2 deben de presentar salida del contenido o burbujas en los contenedores sellados.

#### 3.11.5. Fundamento de la Prueba de Identificación <sup>(7)</sup>

La identificación de la muestras es de suma importancia para asegurar que lo que se está analizando sea lo que posea la muestra, en la monografía de la Farmacopea de los Estados Unidos edición 30th, describe que la prueba de identificación se realizara comparando los tiempos de retención de cada muestra con el tiempo de retención del estándar. El tiempo de retención es el tiempo característico que tarda un analito particular en pasar a través del sistema (desde la columna de entrada hasta el detector) bajo las condiciones fijadas. Por tal motivo cada sustancia química posee su determinado tiempo de retención que va respaldado por la señal característica del cromatograma.

#### 3.11.6. Fundamento de la prueba de pH <sup>(7)</sup>

El pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución. El pH indica la concentración de iones hidronio  $[H_3O^+]$  presentes en determinadas sustancias. La sigla significa “potencial de hidrógeno” que

se definió como el logaritmo negativo de base 10 de la actividad de los iones hidrógeno.

Esto es:

Formula N° 5 Determinación del pH

$$\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}_3\text{O}^+]$$

El valor del pH se puede medir de forma precisa mediante un potenciómetro, también conocido como pH-metro, un instrumento que mide la diferencia de potencial entre dos electrodos: un electrodo de referencia (generalmente de plata/cloruro de plata) y un electrodo de vidrio que es sensible al ion de hidrógeno.

También se puede medir de forma aproximada el pH de una disolución empleando indicadores, ácidos o bases débiles que presentan diferente color según el pH. Generalmente se emplea papel indicador, que se trata de papel impregnado de una mezcla de indicadores cualitativos para la determinación del pH. El papel de litmus o papel tornasol es el indicador mejor conocido. Otros indicadores usuales son la fenolftaleína y el naranja de metilo.

A pesar de que muchos potenciómetros tienen escalas con valores que van desde 1 hasta 14, los valores de pH también pueden ser aún menores que 1 o aún mayores que 14. Por ejemplo el ácido de batería de



automóviles tiene valores cercanos de pH menores que uno, mientras que el hidróxido de sodio 1 M varía de 13,5 a 14.

Un pH igual a 7 es neutro, menor que 7 es ácido y mayor que 7 es básico a 25 °C. A distintas temperaturas, el valor de pH neutro puede variar debido a la constante de equilibrio del agua ( $K_w$ ).

La determinación del pH es uno de los procedimientos analíticos más importantes y más usados en ciencias tales como química, bioquímica y la química de suelos. El pH determina muchas características notables de la estructura y actividad de las biomacromoléculas y, por tanto, del comportamiento de células y organismos.

#### 3.11.7. Fundamentos de la Prueba de Endotoxinas Bacterianas <sup>(7)</sup>.

La detección de pirógenos, cobra importancia cuando se habla de Control de Calidad en productos. Varias décadas de experiencia en la detección de pirógenos, sugieren que solamente los pirógenos que están en soluciones parenterales y dispositivos médicos, son derivados de la membrana externa de bacterias Gram Negativas. Cuando son inyectados en humanos en cantidades suficientes, los pirógenos pueden causar variedad de efectos adversos, el más común es el aumento de la temperatura corporal. Los efectos de los pirógenos raramente causan la muerte, sin embargo los pirógenos son considerados sustancias tóxicas que pueden contaminar soluciones parenterales.

Los pirógenos provienen de microorganismos, todas las formas microbianas producen pirógenos, sin embargo, el origen más potente son las bacterias Gram negativas. La estructura primaria involucrada en las reacciones pirogénicas en mamíferos es el lipopolisacárido (LPS), de la membrana celular de bacterias Gram negativas, conocido también como endotoxina. El LPS extraído y recuperado como una suspensión coloidal, puede dividirse por una hidrólisis ácida suave a lípido A y polisacáridos. El lípido A está compuesto de  $\beta$ -1,6 glucosamina, disacáridos unidos con ácido hidroximirístico. Cada dos unidades de glucosamina separadas por dos fosfatos forman un polímero lineal. El lípido A por si solo pierde actividad biológica, probablemente porque el polisacárido incrementa la solubilidad acuosa del lípido A; se ha demostrado que cuando el lípido A es separado del polisacárido componente de la endotoxina, este pierde más de 99.9% de su actividad pirogénica en conejos.

La ausencia de contaminación por pirógenos, caracteriza a los productos parenterales de la misma manera que los son parámetros como la esterilidad y material particulado. La prevención de contaminación de estos agentes, involucra principalmente el uso de ingredientes, solventes, materiales de empaque y equipo de

procesamiento que haya sido anteriormente despirogenado, y un apropiado proceso de manufactura para minimizar la posibilidad de desarrollo de pirógenos.

Los métodos escogidos para la detección de pirógenos bacterianos más utilizados son: la prueba de pirógenos en conejos USP-BP y la prueba del extracto del Limulus Amebocito Lisado-LAL.

#### Lisado de Amebocito de Limulus (LAL)

Fue desarrollada en 1964 cuando se reportaron que las preparaciones de endotoxina termoestable de *Escherichia coli* y *Vibrio polyphemus*, inducían la coagulación extracelular de la hemolinfa de *Limulus polyphemus*., conocido como cangrejo de herradura. Estudio realizados han permitido determinar que los amebocitos, las células constituyentes de la hemolinfa del cangrejo eran requeridas para la coagulación.

Esta prueba puede reemplazar la prueba de pirógenos, para el control de producto terminado de drogas inyectables para uso animal y dispositivos médicos. Se recomienda la prueba de LAL para la cuantificación de endotoxinas en materia prima empleada en la producción incluyendo agua y para controlar los niveles de endotoxina

durante el proceso de producción. El principio biológico de esta prueba se basa en la reacción que lleva a cabo la formación del coágulo a través de una cascada de pasos de activación enzimática. La proteína de coagulación (coagulógeno) es desdoblada por la enzima de coagulación activada; los productos del desdoblamiento son insolubles y se unen mediante interacción iónica para formar la matriz del gel.

La sensibilidad en la prueba de LAL es definida como la baja concentración de la endotoxina purificada que puede producir un gel firme, el cual puede permanecer intacto cuando es invertido 180° por el método de gel clot, después de una hora de incubación a 37°C

El mecanismo de acción comprende los siguientes pasos:

1. La endotoxina o un preparado de lípido Ha derivado de la endotoxina, activa una pro enzima de LAL (lisado de amebocito de *Limulus*), con un peso molecular de 150.000.
2. La activación también depende de la presencia de cationes metálicos divalentes como el calcio, manganeso o magnesio. Se ha demostrado que la sensibilidad del ensayo de LAL incrementa de 10 a 30 veces si se usa un reactivo de LAL que contenga 50mM de magnesio.
3. La pro enzima activada relacionada a una clase de proteasas tales como trombina, tripsina y factor Xa, subsecuentemente reaccionan

con una fracción de proteína de bajo peso molecular, contenida también en el LAL.

4. La fracción de bajo peso molecular, llamada coagulógeno, es escindido por la pro enzima en subunidades solubles e insolubles. La subunidad insoluble aparece como un coágulo sólido, un precipitado o una solución turbia, dependiendo de la cantidad de coagulógeno insoluble formado por el producto.

La prueba de LAL ofrece siete ventajas sobre la prueba biológica en conejos para la detección de pirógenos en productos inyectables parenterales:

- Mayor sensibilidad.
- Más puntual.
- Mejor especificidad.
- Menor variación.
- Más rápida.
- Obtención de resultados cuantitativos.
- Menos costosa.

Métodos para el ensayo de LAL

Para la realización de la técnica de LAL existen tres métodos:

1. Método turbidimétrico:

El reactivo turbidimétrico contiene suficiente coagulógeno para formar una solución turbia pero no un coágulo firme, cuando es dividido en subunidades por la enzima procuagulante y el punto final se determina por lectura en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 360nm.

## 2. Método cromogénico:

Es un método cuantitativo en el cual el coagulógeno se reemplaza total o parcialmente por un sustrato cromogénico el cual es un péptido sintético pequeño unido covalentemente a un cromóforo (p-nitroanillida). La intensidad del color formado (amarillo que absorbe a una longitud de onda de 405nm), es proporcional a la cantidad de endotoxina y se determina por interpretación en una curva patrón.

## 3. Método de gelificación:

Es un método semicuantitativo, puesto que el punto final del ensayo se halla entre la mayor dilución de la muestra que presenta un gel firme y la dilución inmediatamente anterior. Esencialmente la prueba consiste en la adición de 0.1 ml de lisado y 0.1ml de producto a evaluar en tubos despirogenizados, que se ponen al baño de maría a 37°C y luego se invierte el tubo cuidadosamente 180°. Si la solución ha formado un gel y permanece en el

fondo del tubo, la prueba es positiva, de lo contrario si la solución permanece líquida la prueba es negativa

#### Interferencias de la técnica de LAL

La reacción del reactivo de LAL se ve interferida frecuentemente por la muestra que está siendo ensayada y puede ser causada por diferentes factores, existen tres tipos de interferencias:

##### Inhibición:

Es el tipo de interferencia más común y se reconoce por una disminución en la sensibilidad de LAL. Todo producto debe ser ensayado previamente para verificar la ausencia de inhibición ya que esta puede llevar a resultados falsos positivos.

##### Factores de inhibición

- pH: el reactivo de LAL tiene una capacidad limitada de tamponación. El pH crítico es el de la mezcla de muestra con el reactivo.
- Cationes divalentes: neutralizan la carga negativa de las endotoxinas e incrementan agregación disminuyendo actividad / potencia. Son requeridos para la sensibilidad óptima de LAL, además la sal reactiva puede inhibir la reacción
- Excipientes: algunos excipientes pueden causar interferencia con la prueba dando como resultado la inhibición.

- Agentes quelantes: Tales como el EDTA, Heparina, enlazan cationes divalentes.
- Material de vidrio: Los tubos con resto de NaOH, causan una interferencia y como resultado una inhibición en la formación del gel.
- Falsos positivos: Solo se puede comprobar que un resultado positivo es falso, en la ausencia de la endotoxina. Si los resultados indican un incremento repentino sin explicación, se debe buscar contaminación de endotoxina en primer lugar, y luego realizar cambios de formulación en el producto o proceso.

#### Potenciación:

Es un incremento en la sensibilidad del reactivo LAL, por lo tanto detecta más endotoxinas de las presentes en la muestra. Es fácil confundir la potenciación con la presencia de endotoxinas en la muestra. Una forma de conocerla es colocando una cantidad de CSE concentración de endotoxina estándar a muestra libre de endotoxinas y determinando con el ensayo de LAL la cantidad de endotoxinas presentes. Si la cuantificación de endotoxinas resulta mayor que la cantidad conocida adicionada, se habla el fenómeno de potenciación.

#### Falsos positivos:

Estos resultados se obtienen por la presencia de sustancias que activan el LAL, diferentes a las endotoxinas, ellos sugieren que las endotoxinas están



presentes cuando en realidad no es así. Para reconocer un falso positivo, debe conocerse la naturaleza del producto y el proceso de fabricación. Aunque estos casos son muy raros se sabe que sustancias como la tripsina y glicanos son causantes de resultados falsos positivos.

### 3.11.8. Fundamentos de la Prueba de Esterilidad <sup>(7)</sup>.

#### Inoculación Directa

Técnica de esterilidad en la cual se transfiere directamente una cantidad apropiada de producto, tomado de un recipiente cerrado herméticamente, la cantidad suficiente para trasladar a los medios de cultivo destinados a la detección de bacterias aerobias y anaerobias (Tioglicolato de Sodio), así como a los medios de detección de los hongos y levaduras (Trypticase de Soya).

Es necesario tener una cantidad suficiente del medio de cultivo para tener la seguridad que sus propiedades nutritivas no sean afectadas por la adición del producto en curso del examen. Con objeto de garantizar la distribución homogénea y de eliminar la actividad antibacteriana, a menos que se indique de otro modo la normatividad o en el inserto del producto, se debe transferir el producto en estudio de modo que los líquidos tengan una dilución aproximada de 10 veces y

los sólidos de unas 100 veces. Las pruebas de esterilidad de la USP y BP requieren un volumen mínimo de muestra por volumen contenido de producto para ser transferido a cada medio de cultivo, como se indica en la (Tabla 3). El volumen de la muestra debe representar suficientemente el contenido del producto, y el volumen del medio deben promover adecuadamente el crecimiento microbiano.

#### Filtración por Membrana

Las farmacopeas USP 30, BP 2005 y la OMS, exponen la filtración por membrana como la técnica más recomendable para efectuar Pruebas de Esterilidad.

Para esta prueba es necesario la utilización de filtros de membrana de excelente calidad, de preferencia certificados por el fabricante, que tenga un tamaño nominal de poro de  $0.45\mu\text{m}$  o  $0.22\mu\text{m}$ , dependiendo del producto a procesar, y con un diámetro aproximado de 47mm-50 mm, los materiales más utilizados en la fabricación de filtros son acetato y nitrato de celulosa.

Se deben emplear discos de filtro con un diámetro aproximado de 50 mm en un dispositivo de filtros previamente esterilizado. Si se utilizan filtros de distinto diámetro, deben ajustarse en consecuencia a los volúmenes de las diluciones y los lavados.

**Cuadro N° 2** Volúmenes Requeridos para la Prueba de esterilidad por  
Inoculación Directa

| PRESENTACION DEL PRODUCTO (mL) | VOLUMEN MINIMO DEL PRODUCTO (mL)              | Volumen mínimo del Medio (mL) |
|--------------------------------|---|-------------------------------|
| 10 o menos 1                   | (o el total del contenido<br>sí es menor a 1) | 15                            |
| 10-50                          | 5   | 40                            |
| 50-100                         | 10  | 80                            |
| 100-500                        | Mitad de los frascos                          | N/A                           |
| >500                           | 500   | N/A                           |
| Antibióticos líquidos          | 1   | N/A                           |

\*N/A No aplica

Antes de efectuar la prueba, debe filtrarse una pequeña cantidad de diluyente estéril apropiado. Se debe transferir el contenido del recipiente o los recipientes que se han de examinar al equipo. Si es posible, transferir todo el contenido de los recipientes o la cantidad mínima dejada para la prueba por Inoculación Directa. Si es preciso, diluir el producto que se va a ensayar con el diluyente estéril elegido o siguiendo las instrucciones del inserto.

De preferencia transferir una membrana a cada uno de los medios utilizados, o si no es posible, transferir una membrana cortada asépticamente en dos partes iguales a los diferentes medios. Incubar los medios de cultivo (Tioglicolato de

Sodio y Tripticasa Soya) durante 14 días a 32.5°C +/- 2.5°C si se trata de detectar principalmente bacterias y a 22.5°C +/- 2.5\_C si la prueba esta específicamente destinada a detectar hongos y levaduras.

Si no se evidencia contaminación de los medios, la prueba se reporta como SATISFACTORIA, si al contrario se presenta crecimiento microbiano, se realiza tipificación para determinar el microorganismo contaminante, y se repite nuevamente la prueba, en este caso se reporta como NO SATISFACTORIA.

#### 3.11.9. FUNDAMENTO DEL ENSAYO <sup>(7)</sup>

Fundamentos y principios básicos:

El HPLC (HIGH PERFORMANCE LIQUID CROMATOGRAPHY) o Cromatografía líquida de alta resolución, es una técnica cromatográfica usada para separar e identificar componentes, usando una variedad de Interacciones químicas entre el analito y la columna cromatográfica. Básicamente es un sistema compuesto de un reservorio de fase móvil, bomba, inyector, columna de separación y detector.

El analito se pasa a través de una columna de la fase estacionaria bombeando la fase móvil líquida con alta presión. La muestra se introduce en pequeños volúmenes a la corriente de la fase móvil y allí se retarda por medio de interacciones químicas con la fase estacionaria mientras atraviesa la columna.

El retardo se conoce como tiempo de retención, único para analito. Depende de la naturaleza del analito, de la fase estacionaria y de la composición de la fase móvil.

Los solutos más comunes usados en la fase móvil son combinaciones de agua purificada con líquidos orgánicos, los más comunes son Metanol y Acetonitrilo, también suelen usarse sales y bufferes para contribuir a la separación de componentes. También se usa el Ácido Trifluoroacético para actuar como formador de pares iónicos.

Estas combinaciones introducen el concepto de gradiente de elución. Consiste en la variación de la composición de la fase móvil, para adaptarse a los diferentes analitos y conseguir mejores resultados. El gradiente separa la matriz del analito en función de la afinidad del analito por la composición de la fase móvil. Cada analito tiene un gradiente de elución óptimo para obtener la máxima separación de picos en el detector.

Tipos de HPLC:

- Cromatografía de fase normal:

Fue el primer tipo de HPLC, separaba analitos basándose en la polaridad. Este método usa una fase estacionaria polar y una fase móvil no polar que se usa cuando el analito es polar. El analito polar es retenido por la fase estacionaria polar. La adsorción aumenta con la

polaridad del analito y la interacción entre analito y fase estacionaria. Esto incrementa el tiempo de elución. La fuerza de interacción depende no solo de los grupos funcionales, sino también de factores estéricos e isómeros estructurales.

El uso de disolventes polares disminuye el tiempo de retención, mientras que disolventes hidrófobos aumentan el tiempo de retención. Algunos solutos polares interaccionan con la fase estacionaria y desactivan la columna.

#### - Cromatografía de fase inversa

Este tipo de HPLC es el más común. En esta técnica se usa una fase estacionaria no polar y una fase móvil moderadamente polar.

La fase estacionaria típica es silicio tratado con  $\text{RMe}_2\text{SiCl}$ , donde R es una cadena lineal con un grupo alcalino.

La adición de disolventes polares incrementa el tiempo de retención y añadir disolventes hidrofóbicos lo disminuyen. El tiempo de retención es mayor para moléculas no polares.

El principio básico de este método está basado en las interacciones del disolvente polar, el analito no polar y la fase estacionaria no polar.

Las características del analito son importantes para sus propiedades de retención. Las moléculas muy grandes pueden causar que la interacción no sea completa. El tiempo de retención aumenta con el

área hidrofobicidad, que es inversamente proporcional al tamaño del soluto. Los componentes ramificados eluyen más rápido porque el área total esta disminuida.

Hay otros modificadores de la fase móvil que afectan a la retención del analito. Añadir sales inorgánicas causa incremento lineal en la tensión superficial de soluciones acuosas, incrementando el tiempo de retención. El pH también es importante porque modifica la hidrofobia del analito. Por eso se suele usar un buffer como fosfato sódico para controlar el pH.

Un ácido orgánico como ácido fórmico o ácido trifluoracético. Sirven para muchas cosas, controlan el pH, neutralizan cualquier carga residual del silicato en la fase estacionaria y actúa como formador de pares iónicos para neutralizar la carga del analito. Los efectos varían pero aumentan la calidad de la cromatografía.

Las columnas de fase inversa son más difíciles de dañar que las normales. Algunas consisten en silicatos alcalinos y nunca se deben usar con sales acuosas, destruirían el silicato. Pueden ser usados con ácidos acuosos, pero no durante mucho tiempo, pueden corroer metal. El metal debe estar en bajo contenido para que la separación de sustancias sea mejor.

- Cromatografía de exclusión por tamaño:

También conocida como cromatografía de gel permeante o cromatografía de gel filtrante. Separa las partículas en función del tamaño.

Es una cromatografía de baja resolución y sirve para determinar estructuras terciarias y cuaternarias de proteínas y es la técnica común para averiguar el peso molecular de polímeros sintéticos y naturales.

- Cromatografía de intercambio iónico:

La retención está basada en la atracción entre iones del soluto y la carga complementaria de la fase estacionaria. Si los iones del soluto y la fase estacionaria tienen la misma carga, son excluidos. Algunos intercambiadores de iones son:

Resinas de Poliestireno: permite entrecruzamientos que dan estabilidad a la cadena.

Celulosa: Tiene tamaño de poros más grandes y bajas densidades de carga que los hacen ideales para la separación de proteínas.

Poros controlado de vidrio o silicona porosa.

Los intercambiadores de iones favorecen la unión de iones de mayor carga y radio inferior. Un incremento en el contra-ión (con respecto a los grupos funcionales de resinas) reduce el tiempo de retención. Un incremento del pH reduce el tiempo de retención en el intercambio catiónico, pero bajar el pH reduce la retención en intercambio aniónico.



Se usa en la purificación de agua, pre concentración de componentes traza, cromatografía de intercambio de ligandos, cromatografía de intercambio de iones de proteínas, intercambio de aniones a alto pH de carbohidratos y polisacáridos.

- Cromatografía de bioafinidad:

Se basa en las propiedades de sustancias bio-activas para formar complejos estables, específicos y reversibles. La formación de los complejos implica fuerzas moleculares como Van der Waals, electrostática, dipolo-dipolo, hidrofóbicas y puentes de hidrogeno. Una unión bioespecífica se forma por acción simultánea de estas fuerzas en los sitios de unión.

### Instrumentación

- Bombas:

La bomba tiene la función de proveer un flujo continuo del eluyente a través del inyector, la columna y el detector. Los requisitos de una bomba para HPLC son:

- Rango de flujo: de 0.01 a 10 ml/min
- Rango de presión: de 1 a 5000 psi
- Pulsos de presión: menos del 1% para HPLC normal e inverso y menos del 0,2% para el HPLC de exclusión de tamaño.

- Existen distintos tipos de bombas:
- De presión constante: son fáciles de usar y con bajo mantenimiento, además evitan los pulsos de presión. El problema es que requiere una vigilancia constante del flujo, puesto que las variaciones pueden producir fallos.
- De flujo constante: son capaces de mantener el flujo, existen varios tipos:
- Pistón recíproco: un pistón expela líquido a través de una válvula anti-retorno.
- Pistón dual: Usando dos pistones, provee un flujo constante y libre de pulsos.
- Desplazamiento positivo (jeringuilla): un pistón controlado por motor que provee un flujo suave y sin pulsos.
- Gradiente de elución:
- Para crear el gradiente de la fase móvil, es necesaria una mezcla de los componentes. La capacidad de mezcla es vital para obtener el eluyente óptimo. Existen dos métodos:
- Mezcla de alta presión: se usan bombas de alta presión individuales para cada líquido. Las salidas se conectan en una cámara de mezcla. Se usa un controlador electrónico para asegurar que la mezcla es óptima.
- Mezcla de baja presión: la mezcla ocurre antes de pasar por la bomba, el controlador electrónico regula la cantidad de líquido que pasa por los tubos.
- Inyectores:  
Los inyectores deben introducir muestras líquidas en un rango de volumen desde 0,1 ml a 100 ml.



**CAPITULO IV**  
**DISEÑO METODOLOGICO**

## 4.0 DISEÑO METODOLOGICO

### 4.1 TIPO DE ESTUDIO <sup>(6)</sup>

El Estudio fue de carácter retrospectivo y experimental

RETROSPECTIVO: Porque se tomaron muestras que son utilizadas en el Hospital de Niños Benjamín Bloom dentro de los cuales se encuentra un producto genérico.

EXPERIMENTAL: Porque se realizaron una serie de análisis en el laboratorio de CENSALUD de la Universidad de El Salvador y en laboratorios externos, en los cuales se obtuvieron resultados al problema planteado .En el laboratorio se le realizara pruebas físico – químicas, esterilidad y endotoxinas bacterianas según lo descrito en la farmacopea de los Estados Unidos en su edición 30.

### 4.2 METODOS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

#### 4.2.1 Investigación Bibliográfica:

- Biblioteca y laboratorio de Control de Calidad del Ministerio de Salud (MINSAL)

- Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia Benjamín Orozco de la Universidad del Salvador (UES)
- Documentación en el Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom Farmacia Central.
- Internet

#### 4.2.2. Investigación Experimental.

Se realizó en:

- Entrevistas médicas del Hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom,
- Universidad de El Salvador.
- Laboratorios externos (empresa privada)

### 4.3 INVESTIGACION DE CAMPO

#### 4.3.1. UNIVERSO

Clindamicina Fosfato solución estéril inyectable de 150mg/mL frasco vial de 900mg en 6 mL, uso hospitalario multidosis fabricada en El Salvador producto nacional y la fabricada en el extranjero producto innovador, dispensadas en el Hospital Nacional de niños Benjamín Bloom.

#### 4.3.2. MUESTREO <sup>(17)</sup>

Para la conformación y determinación del tamaño de la muestra, se diseñó un estudio estadístico no probabilístico, se tomaran muestra de Clindamicina 150 mg/mL del producto innovador (producto de referencia) y un producto fabricado en El Salvador (producto genérico)

#### 4.3.3. TIPO DE MUESTREO <sup>(17)</sup>

Dirigido o intencional, el cual consiste en seleccionar las unidades de estudio según el criterio de los investigadores, dado que, las unidades seleccionadas gozan de representatividad.

### 4.4 PARTE EXPERIMENTAL

#### 4.4.1 APARIENCIA <sup>(4)</sup>

Se describió las propiedades organolépticas del contenido de diez frascos viales del producto innovador y el producto nacional, incluyendo sus envases.

#### 4.4.2 VOLUMEN DE INYECTABLE <sup>(7)</sup>

Para el volumen del inyectable se utilizó una jeringa de 1.0 mL, se toman las dosis según indica el vial, hasta que se termine el contenido del frasco vial, se suman las dosis tomadas y se comparan con el volumen sugerido del fabricante, se hizo el ensayo a diez frascos viales del producto innovador y el nacional.

#### 4.4.3. DENSIDAD <sup>(4)</sup>

Se llenó un picnómetro de 2.0 mL con el contenido de un frasco vial de clindamicina fosfato solución para inyección, se pesa en una balanza analítica, se repitió este proceso para diez frascos viales del producto innovador y del producto nacional. Y se determina su densidad con la siguiente formula:

$$\text{Densidad} = \frac{(\text{peso del picnómetro lleno} - \text{peso del picnómetro vacío}) \text{ (mg)}}{\text{Volumen del picnómetro (mL)}}$$

#### 4.4.4 PRUEBA DE CIERRE <sup>(4)</sup>

Se tomó con la ayuda de una jeringa de 5.0 mL se perforaro 6 veces el sello de hule, se repitió el proceso a diez frascos viales del producto innovador y al producto nacional.



En un beaker de 1000 mL sumergir cada frasco vial, observar que no se liberen burbujas ni que ingrese agua al frasco vial.

#### 4.4.5 DETERMINACION DE IDENTIFICACION <sup>(7)</sup>

Al obtener los cromatogramas de las muestras del producto Innovador y del producto Nacional, al comparar los tiempos de retención, deben de ser similares con el tiempo de retención con los del estándar.

#### 4.4.6 DETERMINACION DE pH <sup>(7)</sup>

Se realizó la medición del pH, al volumen completo de cada vial de diez muestras del Producto Innovador y diez muestras del Nacional. Con la ayuda de un pH-metro <sup>(18)</sup>

#### 4.4.7 PRUEBAS ENDOTOXINAS BACTERIANAS <sup>(7)</sup>

##### 4.4.7.1 Preparación de Materiales

Todo el material de vidrio que se utilizó, estaba exento de endotoxinas así como frascos para toma de muestra, tubos para diluciones y tubos de reacción. La boquilla de los tubos de reacción se cubrió con papel aluminio, todo el material fue

expuesto a una temperatura en una estufa a 210 - 225°C durante 3 horas (Despirogenización).

#### 4.4.7.2 Reconstitución del Reactivo de LAL

Se retiró el protector metálico del vial y se añadió cuidadosamente 5 ml de agua libre de pirógenos, se mezcló suavemente por unos tres minutos. La reconstitución se hizo bajo la campana de flujo laminar o en el área del mechero, es decir, en condiciones de asepsia.

#### 4.4.7.3 Reconstitución del Estándar de Endotoxinas.

Se retiró el protector metálico del vial y se añadió cuidadosamente 5.0 mL de agua libre de pirógenos se cubrió el frasco con papel para fil M (el lado que está en contacto con el papel se encuentra libre de pirógenos). Se Agito por 1 minuto en vortex, se dejó reposar por 5 minutos y se agito nuevamente por 1 minuto se continuo de esta forma hasta cumplir 1/2 hora. Una vez reconstituido se almaceno de 2-8°C. No colocarlo en el freezer.

Formulas a utilizar

Máxima Dilución Valida (MDV)

$$MDV = \frac{\text{Limite de Endotoxinas (EU / g)} \times \text{Concentración Muestra (g / mL)}}{\text{Sensibilidad LAL (EU / mL)}}$$

Procedimiento de Análisis.

Toma de Muestra.

Esta se realiza tomando una cantidad representativa del lote a analizar.

Preparación de Diluciones de Estándar.

Cuando el estándar de endotoxinas tenga una potencia diferente a 10 EU/ng se deben realizar cálculos para ajustar las diluciones y obtener la concentración de estándar deseada

Estándar de 0.5 µg Potencia 10 EU/ng reconstituido a 5.0 mL.

Concentración de estándar 1000 EU/ml

Dilución a concentración de 10 EU/mL

Se agregó 4.95 mL de agua libre de pirógenos y se colocó en un tubo de ensayo despirogenizado de volumen de 8.0 mL.

Se agregó 50  $\mu$ L del estándar de 1000 EU/mL y se agito en vortex por 1 minuto para tener una concentración de endotoxinas de 10 EU/mL.

Dilución a concentración de 1.25 EU/mL

Se agregó 3.5 mL de agua libre de pirógenos y se colocó en un tubo de ensayo despirogenizado de volumen de 8.0 mL.

Se agregó 500  $\mu$ L del estándar de 10 EU/mL y se agito en vortex por 1 minuto para tener una concentración de endotoxinas de 1.25 EU/mL.

Dilución a concentración de 0.25 EU/mL

Se agregó 1.6 mL de agua libre de pirógenos y se colocó en un tubo de ensayo despirogenizado de volumen de 8.0 mL.

Se agregó 400  $\mu$ L del estándar de 1.25 EU/mL y se agito en vortex por 1 minuto para tener una concentración de endotoxinas de 0.25 EU/mL.

Control de Muestra, Dilución (1:600).

Se Agregó 4.90 mL de agua libre de pirógenos en un tubo despirogenizado.

Se Agregó al tubo anterior 0.10 mL de muestra y se agito en vortex por 1 minuto, dilución (1:50).

Se Agregó 0.40 mL de agua libre de pirógenos en un tubo despirogenizado.

Se Agregó al tubo anterior 0.20 mL de la dilución (1:50) y se agito en vortex por 1 minuto, dilución (1:150).

Se Agregó 0.60 mL de agua libre de pirógenos en un tubo despirogenizado.

Se Agregó al tubo anterior 0.20 mL de la dilución (1:150) y se agito en vortex por 1 minuto, dilución (1:600).

Se Agregó 0.1 mL de esta dilución en 2 tubos de reacción.

Control Positivo en Muestra. (Por duplicado).

Se agregó 4.90 mL de agua libre de pirógenos en un tubo despirogenizado.

Se agregó al tubo anterior 0.10 mL de muestra y se agito en vortex por 1 minuto, dilución (1:50).

Se agregó 0.40 mL de agua libre de pirógenos en un tubo despirogenizado.

Se agregó al tubo anterior 0.20 mL de la dilución (1:50) y se agito en vortex por 1 minuto, dilución (1:150).

Se agregó 0.20 mL de agua libre de pirógenos en un tubo despirogenizado.

Se agregó al tubo anterior 0.20 mL de la dilución (1:150) y se agito en vortex por 1 minuto, dilución (1:300).

Se tomó 100  $\mu$ L de dilución 1 en 300 y agregarlo en 2 tubos de reacción.

Se agregó a este tubo 100  $\mu$ L de estándar de 0.25 EU/mL.

Se agito 30 segundos para obtener una concentración de estándar de 0.125 EU/mL (2 $\lambda$ )

Se descartó 100  $\mu$ L de esta mezcla

Control Positivo. (Por duplicado).

Se Agregó 100  $\mu$ L de agua libre de pirógenos en 2 tubos de reacción.

Se Agregó a este tubo 100  $\mu$ L de estándar de 0.25 EU/mL.

Se Agito 30 segundos para obtener una concentración de estándar de 0.125 EU/mL (2 $\lambda$ ) y muestra 1 en 4.

Se descartó 100  $\mu$ L de esta mezcla.

Control Negativo.

Se tomó 100  $\mu$ L de agua libre de pirógenos y agregar en 2 tubos de reacción

Corrida del ensayo.

Se agregó a cada uno de los controles 100  $\mu$ L de reactivo LAL, luego se agito en vortex por dos segundos y se colocó en un baño de agua a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 60 minutos, luego se retiraron los tubos con cuidado y se giraron  $180^{\circ}$ . La formación de un coagulo que permanece firme en el tubo rotado  $180^{\circ}$  indica la presencia de endotoxinas, la ausencia de coagulo indica la no presencia de endotoxinas.

Interpretación de resultados.

La prueba indica la no presencia de endotoxinas en la muestra si se observa ausencia de coagulo en las réplicas de los controles negativos así también en el control de muestra y formación de coagulo en las réplicas de los dos controles positivos.

La prueba confirma la presencia de endotoxinas en la muestra si se observa formación de coagulo en las réplicas del control de muestra, así

también en los controles positivos y la no formación de coagulo en el control negativo.

#### 4.4.8 PRUEBA DE ESTERILIDAD <sup>(7)</sup>

##### 4.4.8.1 Medios de cultivo y soluciones

Los medios de cultivos son a partir de medios deshidratados comerciales y se prepararon y trataron según lo indicado por los fabricantes. Se ajustaron el pH con soluciones 1N de hidróxido de sodio ó 1N de ácido clorhídrico para que después de esterilizar en autoclave se obtenga el valor indicado en cada caso.

##### 4.4.8.2 Medios y soluciones

Medio A. Medio fluido de tioglicolato con polisorbato 80 <sup>(6)</sup>

Método de preparación:

Suspender 29.8 g en 1 litro de agua destilada o desmineralizada.

Calentar a ebullición hasta completa disolución, adicionar por cada litro de medio 50 mL de polisorbato 80.

Distribuir en tubos.

Esterilizar en autoclave por 15 minutos a 15 libras de presión (121 °C).

Medio B. Medio Fluido soya tripticaseína con polisorbato 80

pH final:  $7.3 \pm 0.2$  a 25 °C



Suspender 39 g del medio en un litro de agua purificada.

Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Adicionar 5 ml de polisorbato 80 por cada litro de medio.

Distribuir en tubos.

Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión)

Solución I. Solución al 1% de peptona con polisorbato 80

Disolver 0.5 gramo de digerido péptico de tejido animal en 500mL de agua destilada, filtrar y ajustar el pH a  $7.1 \pm 0.2$ , agregar 1mL de polisorbato 80 por cada litro de solución. Distribuir en envases conteniendo 10.0 mL cada uno y Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión)

#### 4.4.8.3 Muestreo

Para determinar la cantidad de muestra a tomar para la prueba se siguió la tabla No 3, dado que las muestras de los viales del innovador y del Nacional no son mayores de 10 mL se tomaron 20 viales para realizar la prueba.

Se tomaron 1 ml (según indica la tabla) por cada vial y se sembró en cada tubo con su respectivo medio de cultivo, cada vial se le tomo 1 mL para un tubo que contenía Solución al 1% de peptona con polisorbato 80.

De esta solución se tomó 1.0 mL y se agregó a un tubo con medio fluido de medio fluido de tioglicolato con polisorbato 80 y 1.0 mL para otro tubo con Medio Fluido soya tripticaseína con polisorbato 80.

El tubo que contenía la muestra con medio fluido soya tripticaseína con polisorbato 80, se incubo a una temperatura de 37 °C. El tubo con medio fluido de tioglicolato con polisorbato 80, se incubo a temperatura ambiente. Ambos tubos tuvieron un periodo de 15 días de incubación.

**Cuadro N 3.** Selección de número de muestras para líquidos (mL) en la Prueba de Esterilidad, Según de acuerdo al apartado <71> Esterilidad

| Contenido en cada envase del producto                | Cantidad mínima tomada por envase para cada medio de cultivo | Volumen mínimo de cada medio |                           | Número de envases por medio de cultivo                       |
|--|--|------------------------------|---------------------------|--|
|  |  | Para cada envase de prueba   | Para la membrana completa |  |
| Menos de 10  | 1.0 mL o todo el volumen si contiene menos de 1mL            | 15                           | 100                       | 20 (40 si cada envase no contiene volumen para ambos medios) |
| De 10 a menos de 50                                  | 5mL  | 40                           | 100                       | 20   |
| De 10 a menos de 100                                 | 10mL   | 80                           | 100                       | 20   |
| De 50 a menos de 100 para administración intravenosa | Todo el contenido del envase                                 | ---                          | 100                       | 10   |
| De 100 a 500   | Todo el contenido del envase                                 | ---                          | 100                       | 10   |
| Más de 500   | 500mL  | ---                          | 100                       | 10   |

#### 4.4.8.4 Interpretación de resultados

Examinar los tubos en la prueba a los tiempos establecidos. Si no se observa turbiedad o crecimiento debidos a desarrollo microbiano, el producto cumple con los requisitos de la prueba de esterilidad. Si se observa crecimiento microbiano, pero hay evidencia de contaminación accidental o los tubos testigo se encuentran contaminados, la prueba es descartada y debe repetirse con el mismo número de muestras.

Si se observa crecimiento o turbiedad debido a crecimiento microbiano y los tubos testigo pasan la prueba, realizar tinción de Gram para observar morfología microscópica y repetir la prueba con el doble de muestras, utilizando las mismas condiciones que la primera prueba. Si no se observa crecimiento microbiano al término del periodo de incubación de la segunda prueba, pero se demuestra que se utilizó una técnica inadecuada, la segunda prueba se invalida y se repite. Si se observa crecimiento microbiano y la técnica empleada fue satisfactoria, se realiza tinción de Gram y si la morfología microscópica es la misma que en la primer prueba, el producto no cumple con la prueba de esterilidad.

#### 4.4.9 PRUEBA DE IDENTIFICACION Y ENSAYO PARA *CLINDAMICINA*

FOSFATO (INYECCION) <sup>(7)</sup>

**Formula y Peso Molecular**

|                             |                          |              |
|-----------------------------|--------------------------|--------------|
| <i>Clindamicina</i> Base    | $C_{18}H_{33}CLN_2O_5S$  | 424.51 g/mol |
| <i>Clindamicina</i> Fosfato | $C_{18}H_{33}CLN_2O_8PS$ | 504.97 g/mol |

## 4.4.9.1 Limites

La inyección de *Clindamicina* contiene una cantidad de Fosfato de *Clindamicina* en agua para inyección equivalente a no menos del 90.0% y no más del 120.0% de la cantidad declarada de *Clindamicina*.

## 4.4.9.2 Condiciones Cromatografías:

- Empaque de Columna: L7(RP8) 25\*4,6mm
- Temperatura : 30°C
- Flujo fase móvil : 1.0 mL/min
- Longitud de onda : 210 nm
- Volumen de inyección : 20 uL

## 4.4.9.3 Preparación de la Fase móvil:

Se pesaron y se disolvieron 10,54g de fosfato de potasio monobásico en 750.0mL de Agua calidad HPLC y ajustándole a un pH 2.5 con ácido fosfórico posteriormente se agregó 225.0mL de acetonitrilo HPLC, se mezcló y se filtró al vacío.

## 4.4.9.4 Diluyente para estándar y muestra:

Fase móvil

## 4.4.9.5 Preparación del Estándar de Ensayo:

Transferir 240 mg de ER *Fosfato de Clindamicina* a un balón volumétrico de 100.0 mL, adicionar 50.0mL de fase móvil y agitar hasta disolver en ultrasonido por 15 minutos, luego llevar a volumen con fase móvil. De esa solución tomar una alícuota de 1.0mL y transferirla a un balón volumétrico de 10.0mL y luego aforar con fase móvil. Esta es la solución del estándar y tienen una concentración conocida de 0.24mg/ml ó 240ug/mL.

Cascada de Dilución del Estándar:

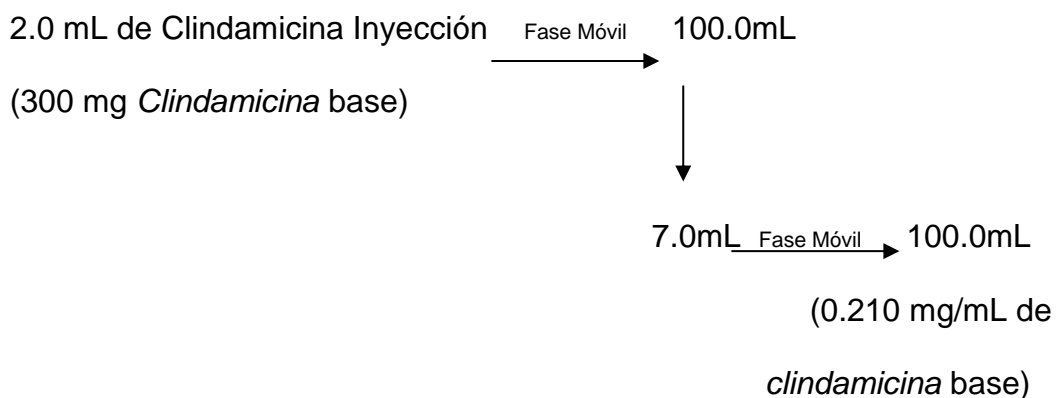
|  |                                   |   |
|--|-----------------------------------|---|
| 24.0 mg <i>Clindamicina Fosfato</i>    | $\xrightarrow{\text{Fase Móvil}}$ | 100.0mL                                 |
| (21.47mg de <i>clindamicina base</i> ) |                                   | (0.214 mg/mL <i>clindamicina base</i> ) |

## 4.4.9.6 Preparación de la muestra del Innovador:

Se transfirió un volumen de la muestra, (2.0 mL) equivalente a 300mg de *Clindamicina Base* a un balón volumétrico de 100.0 mL llevar a volumen con fase móvil y mezclar. Transferir 7.0mL de esta solución a un balón

volumétrico de 100.0mL y aforar con fase móvil. Esta solución tiene una concentración final conocida de 0.21mg/mL ó 210 ug/mL de clindamicina base.

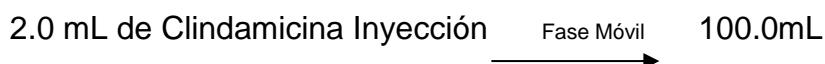
Cascada de Dilución de la Muestra del Producto Innovador:

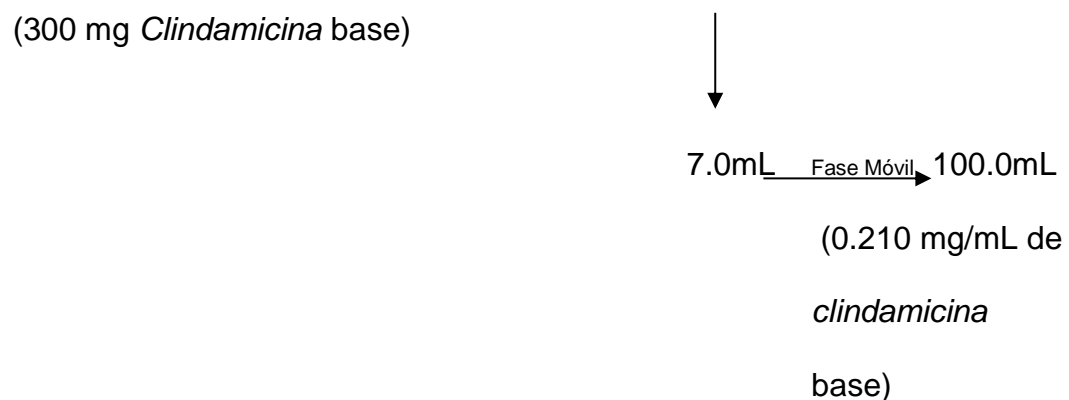


#### 4.4.9.7 Preparación de la muestra del Nacional:

Se transfirió un volumen de la muestra, (2.0 mL) equivalente a 300mg de *Clindamicina Base* a un balón volumétrico de 100.0 mL llevar a volumen con fase móvil y mezclar. Transferir 7.0mL de esta solución a un balón volumétrico de 100.0mL y aforar con fase móvil. Esta solución tiene una concentración final conocida de 0.21mg/mL ó 210 ug/mL de clindamicina base.

Cascada de Dilución de la Muestra del Producto Nacional:





Nota: Tanto para el producto innovador como para la muestra del producto nacional se hicieron los respectivos ajustes de volumen, ya que estos rotulan en base a *Clindamicina Fosfato*.

#### 4.4.9.8 Procedimiento:

El equipo se mont\u00f3 con las condiciones cromatogr\u00e1ficas ya referidas, se inyectaron los est\u00e1ndares y se hicieron los ajustes pertinentes en tiempo de retenci\u00f3n y seguido se inyectaron las muestras. Obteniendo para cada uno de ellos un cromatograma.

**CAPITULO V**  
**RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS**



## **5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

Antes de realizar la cuantificación del principio activo, se realizaron análisis físico-químico y microbiológico al producto nacional como al innovador, luego se compararon los resultados demostrando que el producto Nacional posee similares resultados físicos comparados con producto innovador, como se puede ver en los certificados de análisis.

Además se utilizaron pruebas farmacopeicas y no farmacopeicas. Entre las pruebas oficiales, tomadas de su monografía de la Farmacopea de los Estados Unidos, refleja que el producto nacional posee una calidad aprobada, tanto física, química y microbiológica. Que al compararla con el producto innovador, se refleja una pequeña diferencia entre sus datos, como es el ejemplo en la prueba de apariencia, según el contenedor y el contenido. El contenedor presenta un envase de vidrio, para ambos pero la diferencia es el color del vidrio, el nacional es de color ámbar para evitar que el principio activo se descomponga con la luz, y para el innovador el tipo de vidrio es II y es transparente, debido a que contiene excipientes que ayudan a su estabilidad ante la luz. Pero físicamente y químicamente el Producto nacional se encuentra dentro de los parámetros, que nos brindan las monografías y pruebas farmacopeicas y no farmacopeicas, al igual que el producto Innovador.

Resultado de análisis físico-químico de pruebas físicas del producto de referencia y genérico.


Con el objetivo de analizar los resultados, se definen las especificaciones con las cuales se compararon los resultados obtenidos.


**Cuadro N° 4** Especificaciones de la *Clindamicina* Solución Estéril para Inyección según la monografía de la farmacopea de los Estados Unidos en su edición número 30 <sup>(5)</sup>

| <b>DETERMINACIONES</b> | <b>ESPECIFICACIONES</b>   | <b>METODO DE ANALISIS</b> |
|------------------------|---|---------------------------|
| Apariencia             | Solución transparente incolora libre de partículas o sobrenadante.                                    | Método no farmacopeico    |
| Volumen de Inyectable  | No debe ser menor que el volumen rotulado en el envase  | USP 30                    |
| Densidad               | Comparación de la solución estándar con la muestra  | Método no farmacopeico    |
| Prueba de Cierre       | No menos de 2 viales deben de presentar salida del contenido o burbujas en los contenedores sellados. | Método no farmacopeico    |
| Identificación         | El tiempo de retención obtenido en  | USP 30                    |

|  |  |        |
|--|--|--------|
| de <i>clindamicina</i> base y<br><i>clindamicina</i> fosfato | el cromatograma de la solución de la muestra debe de ser similar al tiempo de retención al obtenido en la solución del estándar ER                     |        |
| Valor de pH  | Debe de estar entre 5.5 – 7.0  | USP 30 |
| Endotoxinas<br>Bacterianas                                   | No contiene más de 0,58<br>Unidades de endotoxinas por mg<br>de <i>clindamicina</i>  | USP 30 |
| Prueba de Esterilidad  | Ausencia total de<br>microorganismos   | USP 30 |
| Cuantificación de<br><i>Clindamicina Fosfato</i>             | Debe de contener no menos de<br>90.0 por ciento y no más de 120.0<br>por ciento de la cantidad<br>declarada en la etiqueta de<br><i>clindamicina</i> . | USP 30 |

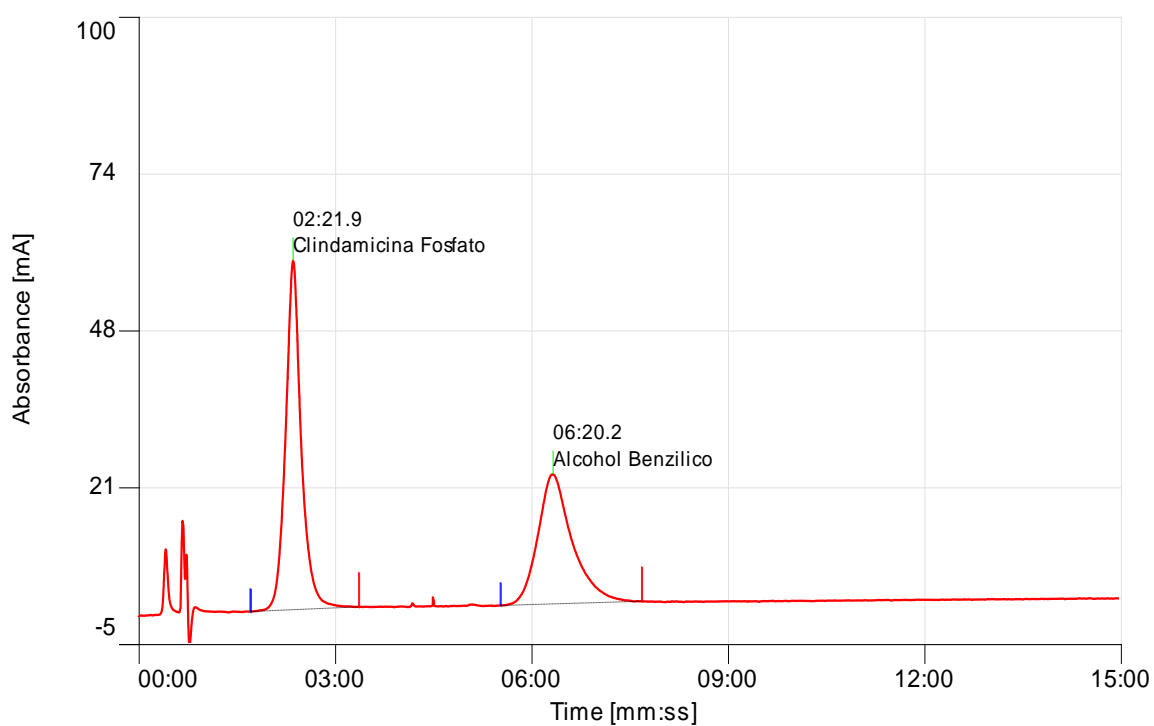
A continuación se presentan los certificados de análisis obtenidos para cada uno de los productos analizados:

|  <b>CENSALUD</b><br><small>Centro de Investigación y Desarrollo en Salud<br/>Universidad de El Salvador</small> |  |   | <b>CERTIFICADO DE ANALISIS DE</b><br><b>SOLUCION INYECTABLE DE CLINDAMICINA FOSFATO</b> |  |  |
|--|--|---|---|--|--|
| <b>Nombre de la Muestra</b><br>Innovador   |  | <b>FECHA DE FABRICACION</b><br>Marzo 2007   |   | <b>REFERENCIA</b><br>USP 30  |  |
| <b>Lote</b><br>F467-J23  |  | <b>Fecha de Expiración</b><br>Marzo 2010  |   | <b>Fecha de análisis</b><br>Julio 2009   |  |
| Cada frasco vial de 6 mL contiene:<br>Fosfato de Clindamicina 900 mg (equivalente a Clindamicina Base)   |  |   |   | <b>Fecha de Emision</b><br>Julio 2009  |  |
| <b>Descripción:</b> Líquido transparente, incoloro,<br>libre de partículas en suspensión, sabor amargo   |  |   | <b>Presentación:</b><br>Ampolla de Vidrio transparente, capacidad de 6 mL               |  |  |
| DETERMINACIONES  |  | ESPECIFICACIONES  |   | RESULTADOS   |  |
| pH (25.0 °C)   |  | 4.5 - 6.5   |   | 6.45   |  |
| Volumen de Inyectable  |  | El Volumen de entrega debe de ser mayor al volumen etiquetado.  |   | Volumen Promedio de 10 ampollas es de 6.00 mL  |  |
| Porcentaje de Volumen de Inyectable  |  | El Volumen de entrega debe de ser entre 95.0 % y el 110.0 % del volumen etiquetado.   |   | 100.00%  |  |
| Densidad (25.0 °C)   |  | No menor de 0.960 g/mL  |   | 0.983 g/mL   |  |
| Prueba de Esterilidad  |  | No se observa turbiedad o crecimiento debido a desarrollo microbiano, en los medios de cultivos.  |   | No se obsevo ningun crecimiento o turbidez en los medios de cultivo  |  |
| Identificación   |  | El tiempo de retencion obtenido en el cromatograma de la preparacion de la muestra debe de ser similar al compararlo con el tiempo de retencion obtenido de la preparacion del Estandar |   | El tiempo de retencion de la muestra fue de 2.21, que es muy cercano al tiempo de retencion de el estandar que fue de 2.20 |  |
| Contenido de Clindamicina Fosfato por cada frasco vial   |  | 810.0 - 1080.0 mg   |   | 610.08 mg  |  |
| Porcentaje sobre lo rotulado   |  | 90.0 % - 120.0 %  |   | 101.68 %   |  |
| ANALISIS MICROBIOLOGICO  |  |   |   |  |  |
| Endotoxinas Bacterianas  |  | No contiene más de 0,58 Unidades USP de endotoxinas por mg de clindamicina  |   | Menor de 0.28 UE   |  |
| Esterilidad  |  | Ausencia total de microorganismos   |   | No hubo crecimiento de microorganismos al pasar los 14 días.   |  |
| Recuento Total de Microorganismos Aerobios   |  | ≤ 100 UFC/mL  |   | < 10 UFC/mL  |  |
| Recuento Total de Hongos y Levaduras   |  | ≤ 10 UFC/mL   |   | <10 UFC/mL   |  |
| Staphylococcus, E. coli, Salmonella, Pseudomon sp  |  | AUSENTE   |   | AUSENTE  |  |
| OBSERVACIONES: El Producto Cumple con las especificaciones de la USP 30  |  |   |   |  |  |
| Universidad de El Salvador, CENSALUD, Control de Calidad, Fisico-Quimico   |  |   |   |  |  |
| Nombre y Firma del Analista:   |  | Ever Leonel Dominguez   |   | f.   |  |
| Nombre y Firma del Analista:   |  | Francisco Antonio Valencia  |   | f.   |  |

|  <b>CENSALUD</b><br><small>Centro de Investigación y Desarrollo en Salud<br/>Universidad de El Salvador</small>   |  |   | <b>CERTIFICADO DE ANALISIS DE</b><br><b>SOLUCION INYECTABLE DE CLINDAMICINA FOSFATO</b> |  |  |
|--|--|---|---|--|--|
| <b>Nombre de la Muestra</b><br>Producto Nacional   |  | <b>FECHA DE FABRICACION</b><br>Marzo 2007   |   | <b>REFERENCIA</b><br>USP 30  |  |
| <b>Lote</b><br>70948   |  | <b>Fecha de Expiración</b><br>Marzo 2010  |   | <b>Fecha de análisis</b><br>Julio 2009   |  |
| Cada frasco vial de 6 mL contiene:<br>Fosfato de Clindamicina 900 mg (equivalente a Clindamicina Base)   |  |   |   |  |  |
| <b>Descripción:</b> Líquido transparente, incoloro,<br>libre de partículas en suspensión, sabor amargo   |  |   | <b>Presentación:</b><br>Ampolla de Vidrio color ambar conteniendo 4 mL                  |  |  |
| DETERMINACIONES  |  | ESPECIFICACIONES  |   | RESULTADOS   |  |
| pH (25.0 °C)   |  | 4.5 - 6.5   |   | 6.29   |  |
| Volumen de Inyectable  |  | El Volumen de entrega debe de ser mayor al volumen etiquetado.  |   | Volumen Promedio de 10 ampollas es de 6.36 mL  |  |
| Porcentaje de Volumen de Inyectable  |  | El Volumen de entrega debe de ser entre 95.0 % y el 110.0 % del volumen etiquetado.   |   | 105.84%  |  |
| Densidad (25.0 °C)   |  | No menor de 0.960 g/mL  |   | 0.920 g/mL   |  |
| Prueba de Esterilidad  |  | No se observa turbiedad o crecimiento debido a desarrollo microbiano, en los medios de cultivos.  |   | No se obsevo ningun crecimiento o turbidez en los medios de cultivo  |  |
| Identificación   |  | El tiempo de retencion obtenido en el cromatograma de la preparacion de la muestra debe de ser similar al compararlo con el tiempo de retencion obtenido de la preparacion del Estandar |   | El tiempo de retencion de la muestra fue de 2.21, que es muy cercano al tiempo de retencion del estandar que fue de 2.20 |  |
| Contenido de Clindamicina Fosfato por cada frasco vial   |  | 810.0 - 1080.0 mg   |   | 610.08 mg  |  |
| Porcentaje sobre lo rotulado   |  | 90.0 % - 120.0 %  |   | 101.68 %   |  |
| ANALISIS MICROBIOLOGICO  |  |   |   |  |  |
| Endotoxinas Bacterianas  |  | No contiene más de 0,58 Unidades USP de endotoxinas por mg de clindamicina  |   | Menor de 0.28 UE   |  |
| Esterilidad  |  | Ausencia total de microorganismos   |   | No hubo crecimiento de microorganismos al pasar los 14 días.   |  |
| Recuento Total de Microorganismos Aerobios   |  | ≤ 100 UFC/mL  |   | < 10 UFC/mL  |  |
| Recuento Total de Hongos y Levaduras   |  | ≤ 10 UFC/mL   |   | <10 UFC/mL   |  |
| Staphylococcus, E. coli, Salmonella, Pseudomon sp  |  | AUSENTE   |   | AUSENTE  |  |
| OBSERVACIONES: El Producto Cumple con las especificaciones de la USP 30<br>Universidad de El Salvador, CENSALUD, Control de Calidad, Fisico-Quimico<br>Nombre y Firma del Analista: Ever Leonel Dominguez f.<br>Nombre y Firma del Analista: Francisco Antonio Valencia f. |  |   |   |  |  |

## Cromatograma de Clindamicina Fosfato (Innovador)

|                  |                |                       |                      |                |         |
|------------------|----------------|-----------------------|----------------------|----------------|---------|
| Run Time [mm:ss] | 15:00.0        | Sample Rate [point/s] | 12.500               | Readings       | 11250   |
| Sample Type      | Injectable     | Detector Unit         | A (Absorbance Units) | Detector Range | 1.000   |
| Detector Offset  | 0.000          | Sample Name           | Innovador            | Method Name    | Method1 |
| Method Location  | \Clindamicina\ | Conc. Factor          | 1.000                | ISTD Conc.     | 1.000   |



| No. | Peak Name            | Ret. Time [mm:ss] | Start Time [mm:ss] | End Time [mm:ss] | Area [mAs] | Height [mA] | Qty [µg] |
|-----|----------------------|-------------------|--------------------|------------------|------------|-------------|----------|
| 001 | Clindamicina Fosfato | 02:21.9           | 01:42.5            | 03:22.0          | 955.23     | 58.4        | 0.0000   |
| 002 | Alcohol Benzilico    | 06:20.2           | 05:31.7            | 07:41.3          | 789.34     | 21.8        | 0.0000   |

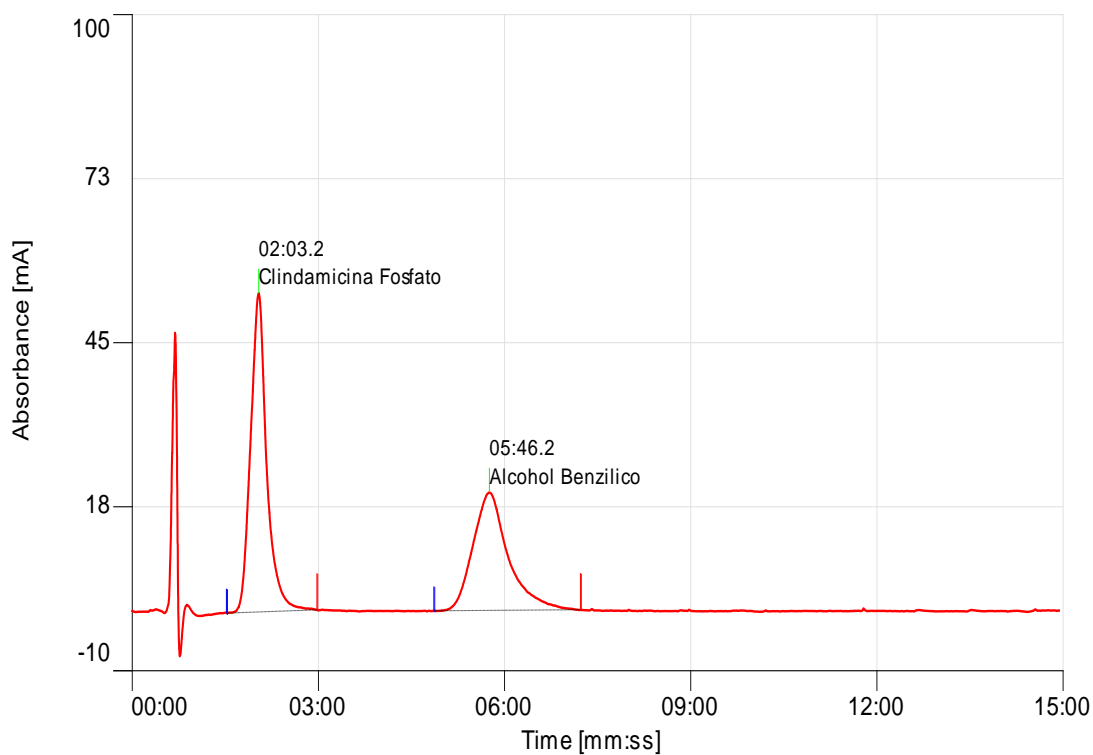
Created: 07/04/2010 03:31 p.m., Modified: 07/04/2010 04:42 p.m., Printed: 07/04/2010 16:43,

PowerStream v3.4 (Build 7037)

**Figura No 3** Cromatograma del producto Innovador

## Cromatograma de Clindamicina Fosfato (Nacional)

|                  |                |                       |                      |                |         |
|------------------|----------------|-----------------------|----------------------|----------------|---------|
| Run Time [mm:ss] | 15:00.0        | Sample Rate [point/s] | 12.500               | Readings       | 11250   |
| Sample Type      | Inyectable     | Detector Unit         | A (Absorbance Units) | Detector Range | 1.000   |
| Detector Offset  | 0.000          | Sample Name           | Nacional             | Method Name    | Method1 |
| Method Location  | \Clindamicina\ | Conc. Factor          | 1.000                | ISTD Conc.     | 1.000   |

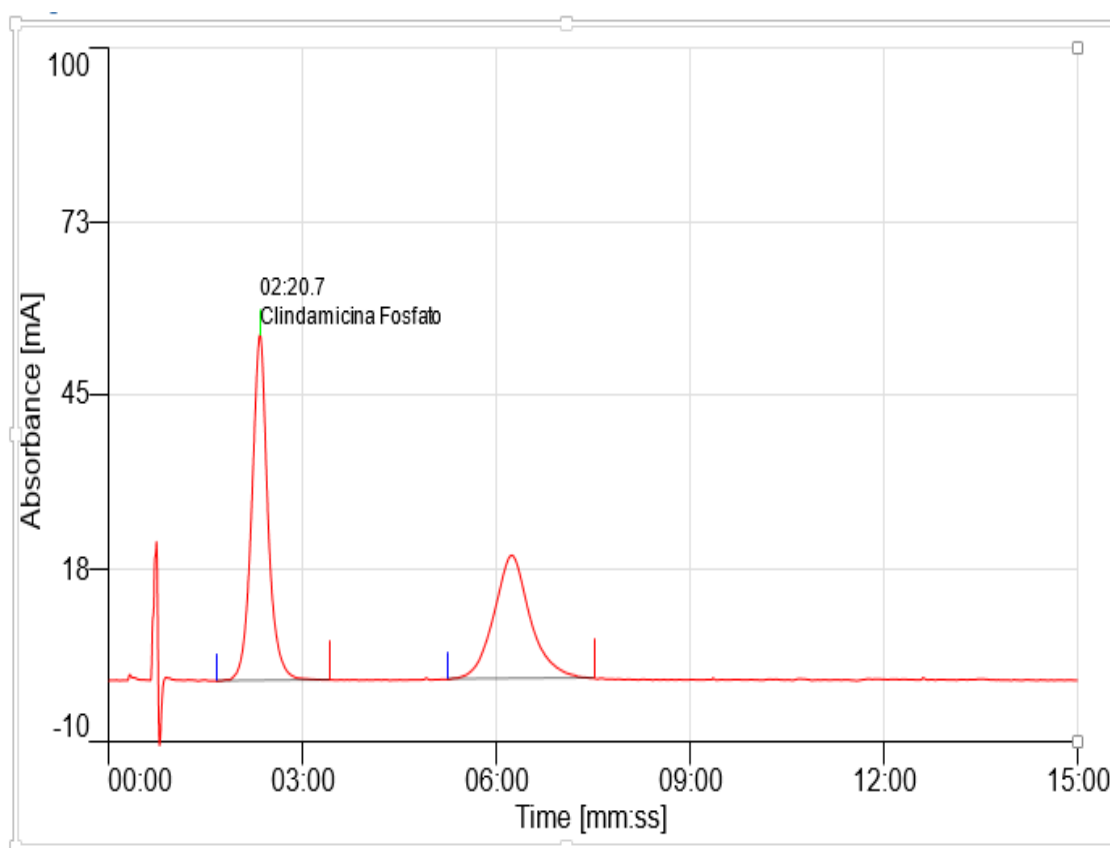


| No. | Peak Name            | Ret. Time [mm:ss] | Start Time [mm:ss] | End Time [mm:ss] | Area [mAs] | Height [mA] | Qty [µg] |
|-----|----------------------|-------------------|--------------------|------------------|------------|-------------|----------|
| 001 | Clindamicina Fosfato | 02:03.2           | 01:31.9            | 02:59.4          | 855.32     | 53.4        | 0.0000   |
| 002 | Alcohol Benzilico    | 05:46.2           | 04:52.5            | 07:14.2          | 778.17     | 19.8        | 0.0000   |

## Cromatograma de Estandar de Clindamicina Fosfato

**Figura No 4** Cromatograma del producto Nacional

|                  |               |                       |                      |                |         |
|------------------|---------------|-----------------------|----------------------|----------------|---------|
| Run Time [mm:ss] | 15:00.0       | Sample Rate [point/s] | 12.500               | Readings       | 11250   |
| Sample Type      | Estándar      | Detector Unit         | A (Absorbance Units) | Detector Range | 1.000   |
| Detector Offset  | 0.000         | Sample Name           | Clindamicina Fosfato | Method Name    | Method1 |
| Method Location  | \Clindamicina | Conc. Factor          | 1.000                | ISTD Conc.     | 1.000   |



| No. | Peak Name            | Ret. Time [mm:ss] | Start Time [mm:ss] | End Time [mm:ss] | Area [mAs] | Height [mA] | Qty [µg] |
|-----|----------------------|-------------------|--------------------|------------------|------------|-------------|----------|
| 001 | Clindamicina Fosfato | 02:20.7           | 01:39.5            | 03:25.0          | 950.16     | 54.7        | 0.0000   |
| 002 | Alcohol Benzilico    | 06:14.6           | 05:15.0            | 07:30.7          | 765.67     | 19.5        | 0.0000   |



**Figura No 5** Cromatograma del Estándar de Clindamicina**5.1 Análisis y Discusión de la Prueba de Apariencia****Cuadro N° 5** Tipo de Envase y propiedades organolépticas del líquido del producto innovador y el Nacional.

| <b>Producto</b>          | <b>Especificación</b>  | <b>Resultado</b>  |
|--------------------------|--|---|
| <b>Innovador</b>         | Líquido transparente, libre de partículas en suspensión, inodoro e incoloro, amargo al gusto.<br>Envase de vidrio. | Líquido traslucido, libre de partículas en suspensión, inodoro e incoloro, amargo al gusto. Vidrio, transparente. |
| <b>Producto Nacional</b> | Líquido transparente, libre de partículas en suspensión, inodoro e incoloro, amargo al gusto.<br>Envase de vidrio. | Líquido traslucido, libre de partículas en suspensión, inodoro e incoloro, amargo al gusto. Vidrio color ámbar.   |

Los resultados de la prueba de apariencia, están descritos en el cuadro N° 5, se trata de un análisis visual de las muestras, que incluye su aspecto de envase, propiedades organolépticas y que no contenga partículas en suspensión o cuerpos extraños, los resultados de dicho análisis, se observaron:

Propiedades organolépticas, ambos medicamentos poseen un líquido traslucido, inodoro e incoloro, que cumple con la especificación propuesta para este tipo de forma farmacéutica, además, se observa que no contiene ninguna partícula en suspensión para ambas muestras, Esta evaluación nos ayuda a verificar, de

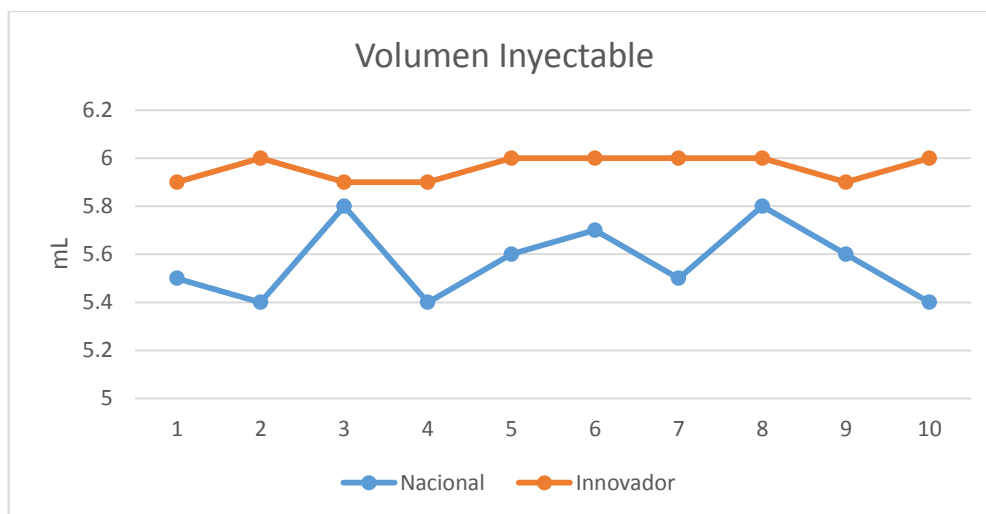
una manera superficial, que sus formas de fabricación, tanto para producto nacional como para el innovador, son aceptables. Pero si revisamos el análisis visual que se realizó a los envase de cada muestra, observamos que hay una diferencia del color del vidrio, el producto nacional posee un color ámbar y el innovador es transparente, el motivo de dicha discrepancia, se puede dar por diversos factores, como ejemplo Estética del producto, que algún componente de la formula sea sensible a la luz, etc. Pero a pesar de esta diferencia, la monografía especifica que el tipo de vidrio sea de borosilicato pero no presenta un parámetro respecto al color.

## 5.2 Análisis y Discusión del Volumen de Inyección

**Cuadro N° 6** Resultados del análisis de Volumen de Inyección del Producto Innovador y el Nacional

| N° Muestra | Especificación de la Prueba de Volumen Inyectable | Resultados de la prueba del Producto Innovador | Resultados de la prueba del Producto Nacional |
|------------|---|--|---|
| 1          | No debe de ser menor a 6.0 mL                     | 5.9  | 5.5   |
| 2          |   | 6.0  | 5.4   |
| 3          |   | 5.9  | 5.8   |
| 4          |   | 5.9  | 5.4   |
| 5          |   | 6.0  | 5.6   |
| 6          |   | 6.0  | 5.7   |
| 7          |   | 6.0  | 5.5   |
| 8          |   | 6.0  | 5.8   |
| 9          |   | 5.9  | 5.6   |
| 10         |   | 6.0  | 5.4   |

|  |                             |      |      |
|--|-----------------------------|------|------|
|  | <b>Promedio del Volumen</b> | 5.96 | 5.57 |
|--|-----------------------------|------|------|



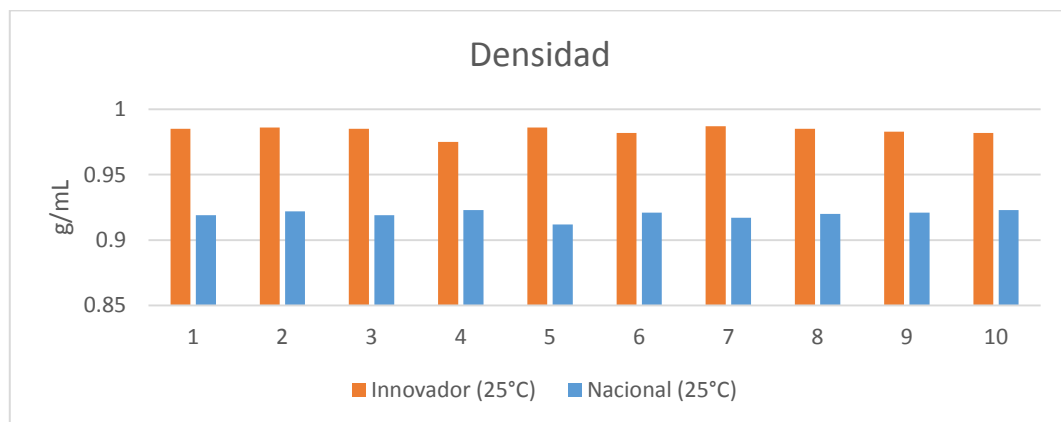
**Figura N° 6** Grafica Comparativa de los datos de la Prueba de Volumen de Inyección descritos en el cuadro N° 6 pertenecientes al Producto Innovador contra el Producto Nacional.

Observamos que los resultados de la prueba de volumen de Inyección (Cuadro N° 6), nos muestra que el producto Innovador mantiene un volumen constante en sus viales, mientras que, para el Producto Nacional sus datos son dispersos, donde se aprecia mejor en la figura N° 6 la diferencia que se mantiene en dichos productos.

### 5.3 Análisis y Discusión de la Prueba de Densidad

**Cuadro N° 7** Datos obtenidos de la Prueba de Densidad para el Producto Innovador y el Producto Nacional

| <b>N° de Muestra</b> | <b>Resultados de la prueba del<br/>Producto<br/>Innovador (25°C)</b> | <b>Resultados de la prueba del<br/>Producto<br/>Nacional (25°C)</b> |
|----------------------|--|---|
| 1                    | 0.985  | 0.919   |
| 2                    | 0.986  | 0.922   |
| 3                    | 0.985  | 0.919   |
| 4                    | 0.975  | 0.923   |
| 5                    | 0.986  | 0.912   |
| 6                    | 0.982  | 0.921   |
| 7                    | 0.987  | 0.917   |
| 8                    | 0.985  | 0.920   |
| 9                    | 0.983  | 0.921   |
| 10                   | 0.982  | 0.923   |

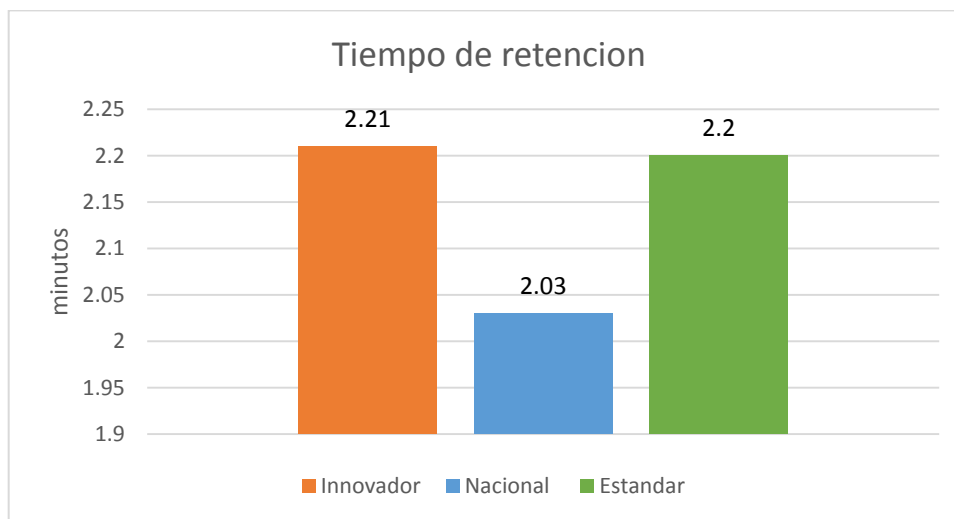


**Figura N° 7** Grafica Comparativa de los datos de la Prueba de Densidad del Producto Innovador contra el Producto Nacional descritos en el Cuadro N° 7, Los resultados obtenidos de la prueba de Densidad para ambas muestras del producto Innovador y del producto nacional, nos refleja que el producto innovador posee más sólido disuelto que el producto innovador.

#### 5.4 Análisis y Discusión de la Prueba de Identificación

**Cuadro N° 8** Resultados de análisis de la prueba de identificación del producto Innovador y el Nacional.

| Producto  | Especificación   | Resultado   |
|-----------|--|---|
| Innovador | El tiempo de retención obtenido en el cromatograma de la preparación de la muestra debe de ser similar al compararlo con el tiempo de retención al obtenido en la preparación del estándar ER (tiempo de retención=2.20) | El tiempo de retención obtenido el cromatograma del producto innovador es de 2.21 minutos |
| Nacional  |  | El tiempo de retención obtenido del producto nacional es de 2.03 minutos                  |



**Figura N° 8** Grafica Comparativa de los datos obtenidos en los Tiempos de Retención (Cuadro N° 8) del Producto Innovador contra el Producto Nacional

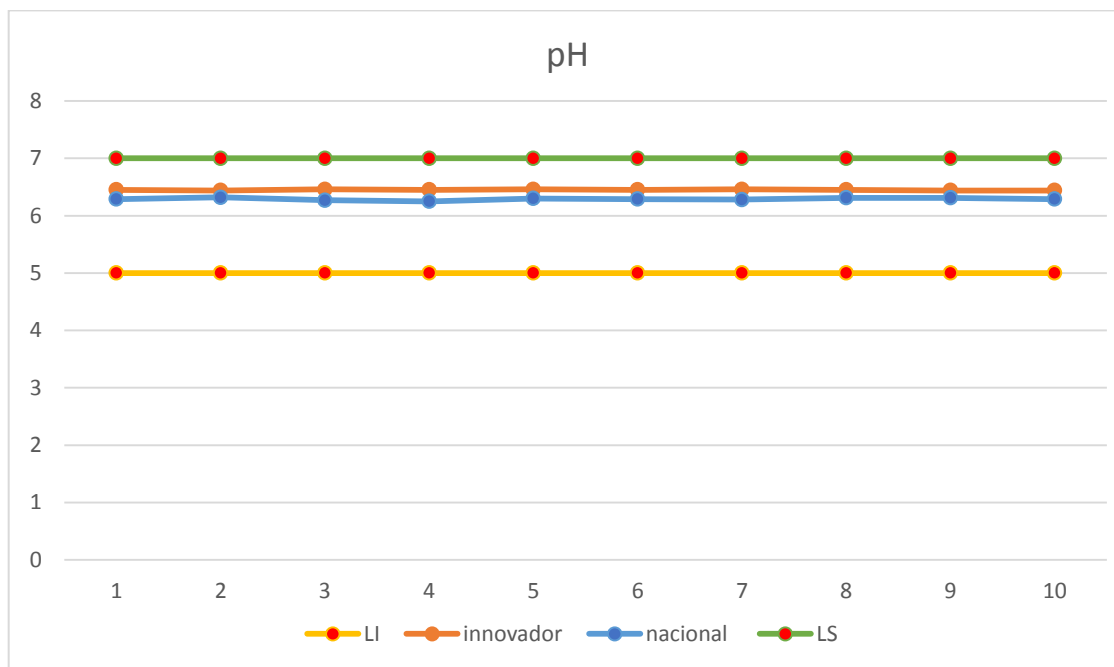
La prueba de identificación para Clindamicina Fosfato se realiza con la ayuda de un HPLC, esta prueba esta basada en comparar los cromatogramas del producto Innovador y el Producto nacional, con el objetivo de poder verificar que el cromatograma del Producto Nacional como el Innovador sea idéntico o se observen las señales principales frente a un estándar de Clindamicina Fosfato. Uno de los datos más importantes proporcionados en este tipo de análisis, es el tiempo de retención (tr) que no es más que el tiempo que la muestra tarda en salir de la fase estacionaria después de las interacciones químicas con esta. La relevancia de este dato es que es único para cada analito. En las pruebas realizadas se pudo obtener los siguientes datos de tiempo de retención para el innovador fue de 2.21 y para el nacional 2.03 respectivamente, dando el

estándar un tiempo de retención de 2.20. La monografía nos dice que para reproducir la inyección es no más de 2%, por tanto los límite, según el estándar, son 2.156 minutos – 2.244 minutos. Dando como resultado que el Producto Innovador se encuentra dentro de este límite y el producto Nacional se encuentra fuera. Además que la señal obtenida en los cromatogramas son similares, por tal razón podemos concluir que estamos en presencia de una misma sustancia (*clindamicina fosfato*).

### 5.5 Análisis y Discusión de la Prueba de pH

**Cuadro N° 9** Valores obtenidos en el análisis de pH para el producto Innovador y el Nacional.

| <b>N° Muestra</b> | <b>Especificación de pH a (25°C)</b> | <b>Innovador</b> | <b>Nacional</b> |
|-------------------|--------------------------------------|------------------|-----------------|
| 1                 | 5.0 a 7.0                            | 6.45             | 6.29            |
| 2                 |                                      | 6.44             | 6.32            |
| 3                 |                                      | 6.46             | 6.27            |
| 4                 |                                      | 6.45             | 6.25            |
| 5                 |                                      | 6.46             | 6.30            |
| 6                 |                                      | 6.45             | 6.29            |
| 7                 |                                      | 6.46             | 6.28            |
| 8                 |                                      | 6.45             | 6.31            |
| 9                 |                                      | 6.44             | 6.31            |
| 10                |                                      | 6.44             | 6.29            |
|                   | <b>Promedio de pH</b>                | <b>6.45</b>      | <b>6.29</b>     |



**Figura N° 9** Grafica Comparativa de los datos de la Prueba de pH de Producto Innovado contra el Producto Nacional.

El pH es la medida de la acidez o basicidad de una solución, el pH en un medicamento es de mucha importancia debido a que este será un factor elemental en la liberación y absorción del principio activo en el sitio de acción. Es por eso que se realizó dicha prueba, tomando como referencia el rango de pH según la monografía de la farmacopea de los Estados Unidos en su edición 30, la especificación es de 5.5 a 7.0, en las pruebas realizadas a 10 muestras tanto del producto innovador como del producto nacional se observan que los datos se encuentran dentro de este rango, a pesar que al comparar los datos



entre el Innovador y el producto Nacional se aprecia que hay una diferencia, pero que ningún dato está fuera del rango establecido

### 5.6 Análisis y Discusión de la Prueba de Endotoxinas

**Cuadro Nº 10** Valores Obtenidos en el análisis de Endotoxinas del producto Innovador y el Nacional.

| Producto  | Especificación  | RESULTADO        |
|-----------|---|------------------|
| Innovador | No contiene más de 0.58 Unidades de USP de Endotoxinas por mg de Clindamicina | Menor de 0.28 UE |
| Nacional  |   | Menor de 0.45 UE |

En la industria de medicamentos parenterales se utilizan grandes volúmenes de agua libre de pirógenos, que son requeridos para la preparación de estos, pero el ambiente de los laboratorios, el personal, los implementos y equipos de los laboratorios, así como el agua y materias primas albergan microorganismos que se desarrollan y afectan la calidad de los medicamentos parenterales. Estas endotoxinas producen efectos dañinos en el organismo de los seres humanos, y en algunos casos puede causar la muerte. Antes de efectuar este análisis, se validó la prueba, para encontrar la dilución adecuada en la cual no se tiene ningún factor de interferencia, y se trabajaron a la dilución de 1:600 para ambos productos, mostrando que ambos productos se encuentran libres de pirógenos bacterianos, debido a que sus resultados se encuentran dentro de los límites

establecidos por su monografía. Al comparar ambos resultados se puede apreciar que el producto nacional se encuentra cerca de los límites, pero a pesar de esta diferencia de resultados, ambos productos se encuentran dentro de los parámetros establecidos, garantizando que se encuentran libres de pirógenos

### 5.7 Análisis y Discusión de la Prueba de Esterilidad

**Cuadro N° 11** Resultados obtenidos en el análisis de Prueba de esterilidad de producto Innovador y el Nacional.

| <b>Producto</b>  | <b>Especificación</b>             | <b>Resultado</b>   |
|------------------|-----------------------------------|--|
| <b>Innovador</b> | Ausencia total de Microorganismos | No hubo crecimiento de microorganismos al pasar los 14 días. |
| <b>Nacional</b>  | Ausencia total de Microorganismos | No hubo crecimiento de microorganismos al pasar los 14 días. |

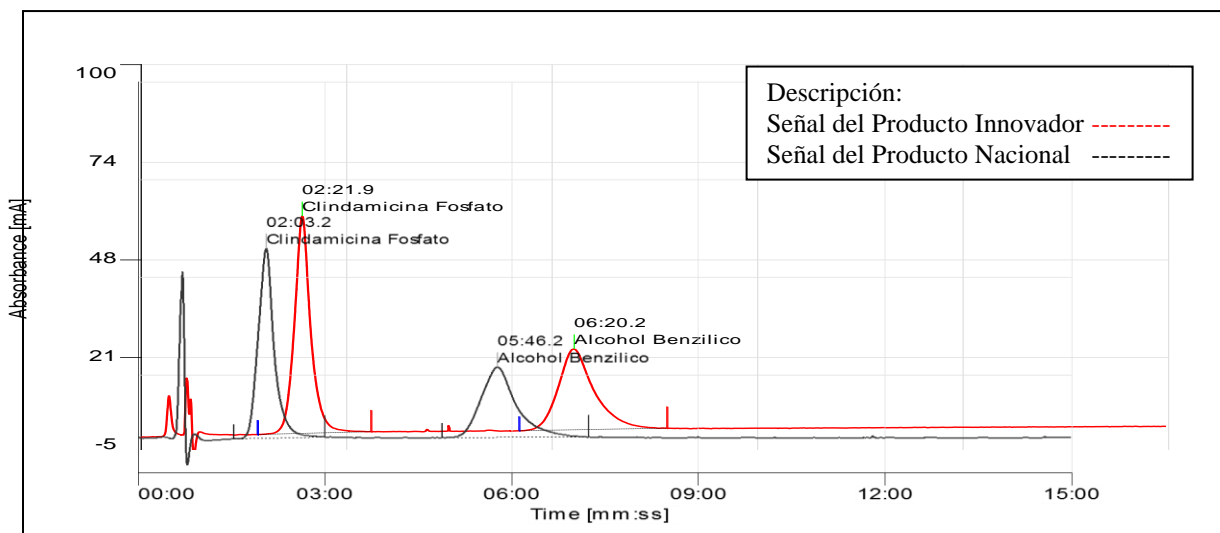
La vigilancia de la inocuidad en los productos farmacéuticos es una parte esencial de todas las pruebas, para poder verificar la inocuidad del producto en estudio se realizó la Prueba de Esterilidad para ello se utilizó el método por membrana, debido a que es un antibiótico, según el apartado de Esterilidad <71> de la farmacopea de los Estados Unidos en su edición 30, las muestras tanto del producto innovador como las del producto nacional fueron incubadas

por 14 días después de su siembra y estas no presentaron presencia o crecimiento de Hongos y Levaduras.

### 5.8 Análisis y Discusión del Contenido de *Clindamicina* y porcentaje sobre lo rotulado.

**Cuadro N° 12** Comparación de Áreas obtenidos en el Ensayo del Producto Innovador y el Nacional contra el Estándar de *Clindamicina* Fosfato USP.

| Producto  | Área de Estándar Clindamicina Fosfato en (mAs) | Resultado de las áreas obtenidas en los cromatogramas |
|-----------|--|---|
| Nacional  | 950.16   | 865.32  |
| Innovador | 950.16   | 955.23  |



**Figura N° 10** Comparación de los cromatogramas del Producto Innovador

contra el Producto Nacional

Para realizar este ensayo la farmacopea especifica una concentración del estándar y de la muestra a 0.24 mg/mL en que la desviación estándar para reproducir la inyección es no más de 2.0 %, el estándar posee un tiempo de retención de 2.20, dando los límites de 2.156 minutos – 2.244 minutos y determinando un porcentaje sobre lo rotulado entre el 90.0 % - 120.0 %.

El cuadro muestra las áreas obtenidas tanto para el producto de nacional como el producto innovador, y a la vez muestra el área promedio obtenida en la réplica de 3 inyecciones del estándar.

**Cuadro N° 13** Cuadro de Comparación de Porcentajes sobre lo rotulado obtenidos en el ensayo del Producto Innovador y el Nacional contra el Estándar de Clindamicina Fosfato USP.

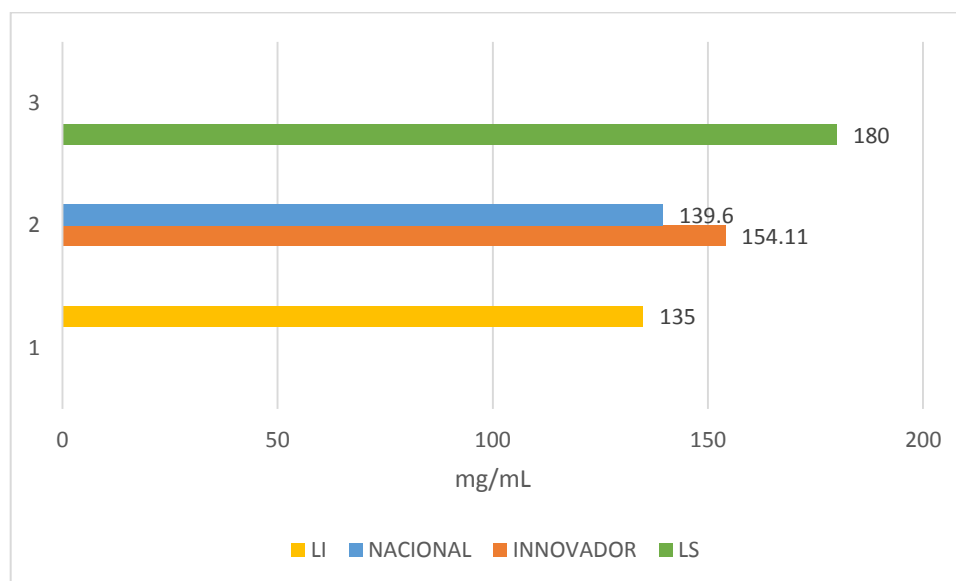
| <b>Producto</b> | <b>Especificación</b>                                  | <b>% Sobre lo Rotulado</b> |
|-----------------|--|----------------------------|
| Nacional        | 90% al 120% de la cantidad que rotula de clindamicina. | 93.07 %                    |
| Innovador       | 90% al 120% de la cantidad que rotula de clindamicina. | 102.64 %                   |

Los cálculos para los porcentajes sobre lo rotulado obtenidos en el producto nacional y el innovador, ambos valores se encuentran dentro de la

especificación de la monografía de la farmacopea de los Estados Unidos de América en su edición 30 para Clindamicina Inyección que según la especificaciones, esta debe contener de un 90.0% a un 120.0% de la cantidad rotulada de Clindamicina base.

**Cuadro N° 14** Comparación del Contenido de Clindamicina por mL a partir del ensayo del producto Innovador y el Nacional.

| Producto  | Especificación      | Contenido de Clindamicina mg/mL |
|-----------|---------------------|---------------------------------|
| Nacional  | 135mg/mL a 180mg/mL | 139.60 mg/mL                    |
| Innovador | 135mg/mL a 180mg/mL | 154.11 mg/mL                    |



**Figura N° 11** Comparación de la concentración encontrada en el Producto

### Innovador contra el Producto Nacional

Los resultados obtenidos en el ensayo, muestran que el contenido de *clindamicina* en el producto innovador y en el nacional, cumplen con las especificaciones que brinda la monografía de la farmacopea, por tanto se puede observar que ambas presentaciones cumplen con los parámetros estipulados para su análisis, aunque se observa una pequeña diferencia en la cantidad de principio activo, el producto innovador muestra una cantidad mayor en comparación con la del producto nacional. A pesar de esa diferencia, los dos productos cumplen con la prueba.

**CAPITULO VI**  
**CONCLUSIONES**

## 6.0 CONCLUSIONES

1. El Producto Nacional y el Producto Innovador, cumplen con las Especificaciones de Calidad, establecidas en la Farmacopea de los Estados Unidos en su edición 30. Excepto con la prueba de identificación, debido a que el tiempo de retención del producto nacional es menor al compararlo con el tiempo de retención del estándar.
2. Las Pruebas Farmacopeicas según la Farmacopea de los Estados Unidos en su edición 30 son: pH, volumen de Inyección, Esterilidad, Endotoxinas Bacterianas y Valoración del ensayo. Los resultados obtenidos, indican que ambos medicamentos se encuentran dentro de los parámetros establecidos, cabe mencionar que en la comparación de sus resultados entre sí, existe una amplia diferencia.
3. Las pruebas no Farmacopeicas utilizadas fueron: Densidad, cierre del envase y apariencia. Obteniendo resultados satisfactorios dentro de las especificaciones determinadas para el producto Nacional y el Producto Innovador.



4. Todo Inyectable debe estar libre de agentes contaminantes, como también de presencia de microorganismos; Los resultados de las pruebas de Esterilidad y Endotoxina Bacteriana, nos indican que hay ausencia completa de agentes microbianos, por lo tanto ambos productos cumplen con los parámetros establecidos para el análisis microbiológico.
  
5. El producto Nacional es un equivalente farmacéutico, y se distribuye como tal, ya que cumple con todas las especificaciones farmacopeicas adoptadas para esta región.
  
6. Este estudio comparativo se originó por fallas terapéuticas documentadas por la Junta de Fármacovigilancia del Hospital Benjamín Bloom; por tal motivo se entregará una copia de este estudio.

**CAPITULO VII**  
**RECOMENDACIONES**

## 7.0 RECOMENDACIONES

1. Evaluar la calidad del producto a ensayar con todas las pruebas que dicta la farmacopea de su país de origen o según la farmacopea oficial adoptada en la región, al realizar un estudio comparativo de dos productos de diferente procedencia.
2. Que al realizar la prueba de Cromatografía, tener precaución con factores que pueden alterar los resultados, ya que la identificación, depende de cómo se realice el ensayo y de la preparación previa de las muestras, debido a que nos basamos en la comparación de los tiempos de retención obtenidos mediante el HPLC. Se realiza simultáneamente la preparación previa de las muestras junto con el estándar, se debe utilizar la misma columna, realizar la prueba en el mismo tiempo, verificar la velocidad de flujo que sea continúa al inyectar al HPLC.
3. Que al realizar la prueba de Endotoxinas, se debe de validar el método antes de su aplicación, debido a que los excipientes y/o vehículos

utilizados en su fabricación, pueden ser agentes de interferencia  
brindar resultados inconclusos.

4. Sugerir a los laboratorios farmacéuticos nacionales, aplicar las evaluaciones de calidad de sus productos que recomiendan los documentos farmacopeicos, comparando estos con un producto Innovador antes de ser comercializados.
5. Investigar el comportamiento del producto dispensado en el hospital Nacional de Niños Benjamín Bloom, en un estudio clínico. Debido a que en el país, para el ingreso, registro y distribución de cualquier medicamento solo se considera un estudio físico-químico y microbiológico entre sus requisitos.
6. Que la Facultad de Química y Farmacia promueva capacitaciones en el campo de estudios de bioequivalencia y biodisponibilidad para que estos temas de mucha importancia sean puestos en práctica por el personal docente y luego puedan aplicarlos con los estudiantes.
7. Que los estudiantes egresados de la Facultad de Química y Farmacia, continúen con esta investigación utilizando otros productos, que presentes problemas o fallas terapéuticas.

## **BIBLIOGRAFIA**

## BIBLIOGRAFIA

1. Sabin, R. (2010) Los Antibióticos, documento realizado para explicar de forma clara y precisa el tema de los antibióticos, historia, conceptos básicos, mecanismos de acción, tratamientos, usos. Publicado en monografías.com <http://www.monografias.com/trabajos10/antibi/antibi.html>
2. Berkow, R. 1994, El Manual Merck, 9ª edición española. Océano. Pág. 124 - 132
3. Clarke's. (19) Isolation and identification of drugs in the pharmaceuticals body fluids and post mortem material 3a edición. The Pharmaceuticals Press Pág. 23
4. Colombo B. M. (1976). Control of physical properties in pharmaceutical form. Primera edición. Roma. Org, ital. médico-farmacéutica. Pág. 110 – 115 y 118 -126.

5. Rivera S., Núñez R. Enero 2006 “Estudio Comparativo de perfil de disolución en tabletas de digoxina de un producto de referencia contra gen fabricado en El Salvador”. Licenciatura de Química y Farmacia. San Salvador, El Salvador, Universidad de El Salvador. Pág. 32 - 51.
6. Bonilla, G. (2000). Como hacer una tesis de graduación con Tecnicas Estadisticas. El Salvador, 4° edición, UCA, editores p 87- 97
7. The United States Pharmacopoeia Convention, Inc. (2008). USP 30. Rockville MD, USA pág. 1024-1025
8. Boix montañés, A (1996). Sustitución de equivalentes terapéuticos. Revista de Farmacia hospitalaria 1996. 20(6):351-358. Disponible en :  
[www.sefh.es/revistas/vol20/251\\_358.PDF](http://www.sefh.es/revistas/vol20/251_358.PDF)
9. Brittish Pharmacopoeia. (2009). London. The stationeri office. Vol.-II. P 1319
10. Capitán Haya, (2010) Madrid, España. Vademécum Internacional, documento realizado para dar la información básica del producto *Clindamicina* solución inyectable para el uso médico.

11. García, A. y García, M. sustitución de medicamentos: equivalentes e inequivalentes. Madrid España. El ensayo clínico en España. Disponible [www.farmaindustria.es/...ffe914c0cc1e81cac1256b500036a778/c698c1640b4e7622c1256bc8003fc3ba/\\$FILE/ensayo6.pdf](http://www.farmaindustria.es/...ffe914c0cc1e81cac1256b500036a778/c698c1640b4e7622c1256bc8003fc3ba/$FILE/ensayo6.pdf)
  
12. García, G. Antonio (2007) Bioequivalencia. España. Este artículo menciona sobre las condiciones experimentales que debe cumplir un buen estudio de equivalencia, y sobre los problemas clínicos que ha planteado y que puede plantear la sustitución de medicamentos bioequivalentes. Ahora que irrumpen con fuerza los genéricos, nos parece importante analizar los problemas de bioequivalencia que su uso indiscriminado puede plantear. Se puede ver :  
<http://www.salud.bioetica.org/genericos1.htm>
  
13. COMBINO PHARM S.L. (2008). San Joan Despí, Barcelona. España. Es una publicación acerca de las indicaciones clínicas, contraindicaciones, advertencias, interacciones medicamentosas y sobredosificaciones de la *Clindamicina Fosfato Solución* inyectable, se puede ver en :  
[www.combino-pharm.es/upload/productos/clindamicina.pdf](http://www.combino-pharm.es/upload/productos/clindamicina.pdf)



14. Pharmaceutical Press. (2005). Martindale; The Complete Drug Reference. 35 Edition. United State of America. Pág. 237
15. The United State Pharmacopeia Convention, Inc. (2007). United S Pharmacopeia. Inc. USP 32. Rockville MD, Usa. P. 1010, 1215, 1946 y 1947
16. The United State Pharmacopeia Convention, Inc. (2012). United States Pharmacopeia. Inc. USP 34. Rockville MD, Usa. P. 915, 1024, 1816, 2015 y 2017
17. Tamayo y Tamayo M. (2002). El proceso de la Investigación Científica. 4 ed. México. Editorial Limusa.

**GLOSARIO**

## GLOSARIO

- Absceso <sup>(2)</sup>: es una infección e inflamación del tejido del organismo caracterizado por la hinchazón y la acumulación de pus. Puede ser externo y visible, sobre la piel, o bien interno.
- Asepsia <sup>(2)</sup>: es la condición libre de microorganismos que producen enfermedades o infecciones. El término puede aplicarse tanto a situaciones quirúrgicas como médicas
- Biofilms <sup>(1)</sup>: Los biofilms se definen como comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos y adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo.
- Diverticulitis <sup>(2)</sup>: es una inflamación en la pared intestinal, formando bolsas o divertículos anormales.
- Endometritis <sup>(1, 2)</sup>: Es una inflamación o irritación del revestimiento del útero (endometrio).
- Eosinofilia <sup>(1)</sup>: es la presencia de una cantidad anormalmente alta de eosinófilos en la sangre.

- Equivalente Farmacéutico <sup>(11, 12)</sup>: Dos especialidades medicinales son equivalentes farmacéuticos si contienen la misma cantidad de principio activo, en la misma forma farmacéutica, están destinados a administrados por la misma vía y cumplen con estándares de calidad idénticos o comparables.
- Equivalente Terapéutico <sup>(11, 12)</sup>: Dos especialidades medicinales son equivalentes terapéuticos cuando, siendo alternativas o equivalentes farmacéuticos, y después de la administración en la misma dosis molar, sus efectos con respecto a la eficacia y seguridad resultan esencialmente los mismos; demostrando su equivalencia a través de estudios apropiados de bioequivalencia, farmacodinámicos, clínicos o in-vitro, según corresponda.
- Erupción morbiliforme <sup>(2)</sup>: Erupción Plana de color rojo acompañada de vesículas similares a las del sarampión.
- Fascitis necrotizante <sup>(1)</sup>: es una infección aguda que se extiende por el tejido celular subcutáneo y la fascia, produciendo una rápida necrosis tisular, con grave afección del estado general.
- Forunculosis <sup>(2)</sup>: Es una infección de la glándula productora del sudor, este desemboca en la salida de los pelos de la axila o de la ingle.
- Impétigo <sup>(2)</sup>: es una infección de la piel que se puede contagiar de una persona a otra. Se caracteriza por la aparición de una o más lesiones ulcerosas en la piel, casi siempre cubiertas por una costra de color miel.

- Insuficiencia hepatocítica <sup>(1, 2)</sup>: La insuficiencia hepática es el deterioro severo de la función hepática. La insuficiencia hepática ocurre cuando una gran porción del hígado se encuentra dañada debido a cualquier tipo de trastorno hepático
- In vitro <sup>(1)</sup>: (Latín: *dentro del vidrio*) se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.
- Isotónicas <sup>(2)</sup>: El medio o solución isotónica es aquél en el cual la concentración de soluto es la misma fuera y dentro de una célula. En hematología, se dice de las soluciones que tienen la misma concentración de sales que las células de la sangre son isotónicas. Por tanto, tienen la misma presión osmótica que la sangre y no producen la deformación de los glóbulos rojos. Aplicando este término a la concentración muscular, se dice que una concentración es isotónica cuando la tensión del músculo permanece constante.
- Lysate <sup>(7)</sup>: Lysate del amebocyte de Limulus (LAL) es un extracto acuoso de las células de sangre (amebocytes) del cangrejo de herradura, *Polyphemus de Limulus*. LAL reacciona con bacteriano endotoxina o lipopolysaccharide (LPS), de que es un componente de la membrana Gram - bacterias negativas. Esta reacción es la base de la prueba de LAL, que se utiliza para la detección y la cuantificación de endotoxinas bacterianas.

- Neutropenia <sup>(1)</sup>: También conocida como granulocitopenia o neutropenia, es la disminución aguda o crónica de granulocitos de la sangre, una condición anormal de la sangre que puede predisponer al cuerpo humano a contraer infecciones
- Osteomielitis <sup>(2)</sup>: es una infección súbita o de larga data del hueso o médula ósea, normalmente causada por una bacteriopiógena o micobacteria y hongos.
- Pneumocistosis <sup>(2)</sup>: es una infección de los pulmones causada por el microorganismo *Pneumocystiscarinii*. La neumocistosis se presenta casi exclusivamente en las personas con un sistema inmunológico afectado por el SIDA o por la quimioterapia. Esta condición es a menudo un evento terminal en los pacientes con SIDA.
- Rosácea <sup>(2)</sup>: Es una enfermedad común pero muy a menudo incomprendida, que se estima afecta a más de 45 millones de personas en todo el mundo.
- Shock toxico <sup>(2)</sup>: es un trastorno poco frecuente provocado por una toxina bacteriana. Posee consecuencias fatales, pudiendo ser mortal hasta en la mitad de los casos, puede reaparecer en aquellas personas que sobreviven.
- Toxoplasmosis <sup>(1)</sup>: es una enfermedad infecciosa ocasionada por un protozoo parásito que se llama *Toxoplasma gondii*, un parásito intracelular obligado

- Trombocitopenia <sup>(1)</sup>: es cualquier situación con un recuento plaquetario inferior a 100.000/mm<sup>3</sup>, es decir, la disminución de la cantidad de plaquetas circulantes en el torrente sanguíneo por debajo de los niveles normales. En términos generales los valores normales se ubican entre 150.000/mm<sup>3</sup> y 450.000/mm<sup>3</sup> (Plaquetas por cada milímetro cúbico). La trombocitopenia afecta con mayor frecuencia a personas de 20 a 40 años de edad.
- Tromboflebitis <sup>(1)</sup>: es la inflamación de una vena. La tromboflebitis puede definirse como la presencia de trombos dentro de las venas, que ocasionan una obstrucción en el normal pasaje de la sangre por ellas, en lo que está implicada una inflamación de la vena afectada.
- Ulceras de decúbito <sup>(2)</sup>: son áreas localizadas de necrosis tisular que se desarrolla cuando un tejido blando es comprimido entre una prominencia ósea y una superficie externa por un período prolongado de tiempo. Afecta a personas de piel blanca mayormente personas de ascendencia europea noroccidental.

**ANEXOS**



**ANEXO N° 1**  
**MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS**

**Cristalería**

Agitadores de vidrio

Balones volumétricos de 100.0, 250.0, 500.0, 1000.0 mL.

Frascos despirogenizados (capacidad de 200 ml.)

Matraces de fondo plano

Pipetas volumétricas 1.0 mL, 5.0 mL, 20.0 mL.

Probetas de 10,25 y 100 ml

Tubo de ensayo con rosca

Tubos de ensayo libres de pirógenos.

Vaso de precipitado de 10,100, 150,250 y 400 ml

Vaso de precipitado de plástico de 250 ml

Vidrio de reloj

**Material**

Embudo

Espátulas

Frascos plásticos boca ancha

Gradilla para tubos de ensayo

Malla de Asbesto

Micro espátula

Papel filtro Whatman #3

Papel Glasin

Perillas

Puntas despirogenizadas 0.1 – 5.0 ml. para pipeta automática

Papel aluminio

Tijeras.

## **EQUIPO**

Agitador Vortex Genie III, Marca Scientific Industries, Modelo G560

Agitador Magnético, Marca Acequilabs, Modelo AG-5002

Balanza Analítica, Marca Mettler Toledo, Modelo PCEs-L741

Balanza semianalítica, Marca Mettler Toledo, Modelo AN-7

Baño de agua calibrado a 37°C, Marca Electrolabs, Modelo 78-543-1

Cromatografo HPLC, Marca Perkin Elmer, Modelo 200C

Camara de Flujo Laminar Marca CLIMAR SF 524R, Modelo 45CO74-PL

Hot- plate, Marca Acequilabs, Modelo AG-5002

Incubadora Mircobiologica Marca TESTMART FI-4126AD32, Modelo E54-T

Micro pipetas de volumen ajustable (0.1 – 5.0 ml.)

pH- metro

**REACTIVOS**

Acido fosfóricos 85% AR

Acetonitrilo HPLC

Agua destilada

Agua HPLC

Agua libre de endotoxinas (LRW).

Agar Papadextrosa

Agua para Endotoxinas

Agar Tripticaso Soya

Agar Tioglicolato de Sodio

Alcohol isopropílico

Buffer pH 7

Caldo Tripticaso Soya

Estándar de Endotoxinas 0.5 µg Potencia 10 EU/ng

Etanol 90% AR

Fosfato Monobásico de potasio AR

Reactivo de LAL

Reactivo de LAL liofilizado

USP Fosfato de Clindamicina RS

**ANEXO N° 2**  
**METODOLOGÍA DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO NO FARMACOPÉICO**  
**PARA SOLUCIONES INYECTABLES**

## **FUNDAMENTOS DE METODOS DE ANALISIS FISICO QUIMICOS PARA SOLUCIONES INYECTABLES.**

### **Prueba de Apariencia <sup>(4)</sup>**

Tomar una muestra de 10 viales y por individual color el líquido de cada vial en un beaker de 10 mL, observar el líquido si es transparente.

### **Prueba de Cierre <sup>(4)</sup>**

El cierre es la parte que sella al contenedor de inmediato en el cual el líquido, el polvo o el gránulo, se encuentran contenidos.

Los contenedores duros (vidrio, plástico o metal) necesitan sellos que cumplan los siguientes requerimientos:

Los sellos deben de ser bien ajustados para no permitir que el contenido salga y que las sustancias extrañas no entren al contenedor.

El sello debe de permitir al consumidor retirar fácilmente el contenido abriendo el contenedor o extrayendo el contenido con la ayuda de una jeringa.

El sistema de sellado debe de asegurar al consumidor que el sello no ha estado abierto antes de la primera vez de empleo.

Se dividen en 3 categorías:

Categoría A: Contenedores sellados con cierre de tornillo.

Categoría B: Productos sellados a Presion con una valvula.

Categoría C: Viales

## Categoría C

### Método:

Realice la prueba a 10 viales, con la ayuda de una jeringa de 5 mL y una aguja de 0.9 mm, perfora la parte central del sello con la aguja, repita la operación tres veces más, e igual a los demás viales restantes. Observar que de los 10 viales no menos de 2 deben de presentar salida del contenido en los contenedores sellados.

### **Prueba de Volumen de Inyectable** (7)

Realice la prueba a 10 viales, con la ayuda de una probeta tome el volumen individual a cada vial, anotar cada volumen expresado en mililitros. Luego calcular el volumen promedio.

### **Prueba de Densidad** (4)

Se utiliza para determinar la cantidad de masa contenida en un determinado volumen. La densidad absoluta o real mide la masa por unidad de volumen, y es la que generalmente se entiende por densidad. Y la densidad relativa o gravedad específica que compara la densidad de una sustancia con la del agua; está definida como el peso unitario del material dividido por el peso unitario del agua destilada a 4°C. Se calcula con la siguiente fórmula:  $\text{Densidad relativa} = \frac{\text{densidad de la sustancia}}{\text{densidad del agua}}$ . Con la ayuda de un

Método:

Con un picnómetro de capacidad de 1.0 mL, se llena en su totalidad, y se pesa en una balanza analítica a una temperatura estable.

### **pH**

El **pH** es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución. El pH indica la concentración de iones hidronio  $[H_3O^+]$  presentes en determinadas sustancias.

La sigla significa "potencial de hidrógeno" que se definió como el logaritmo negativo de base 10 de la actividad de los iones hidrógeno. Esto es:

$$pH = -\log_{10} [a_{H_3O^+}]$$

Método:

A 10 viales se le toma el pH con la ayuda de un pHmetro calibrado, en un cuarto de temperatura controlada.



**ANEXO N° 3**

**DETERMINACION DE CONCENTRACION DE CLINDAMICINA BASE EN LAS  
MUESTRAS DEL INNOVADOR Y EL NACIONAL**

## DETERMINACION DE ENSAYO

### Preparación del Estándar

DATOS:

Pureza del estándar: 99.97 %

Peso exacto del Estándar de Clindamicina Fosfato: 24 mg

Preparación de la Solución Estándar.

|                        |                                   |              |
|------------------------|-----------------------------------|--------------|
| 24.0 mg                | $\xrightarrow{\text{Fase Móvil}}$ | 100 mL       |
| (Clindamicina Fosfato) |                                   | (0.24 mg/mL) |

### Preparación de la Muestra

Producto Innovador

Volumen del vial: 6 mL

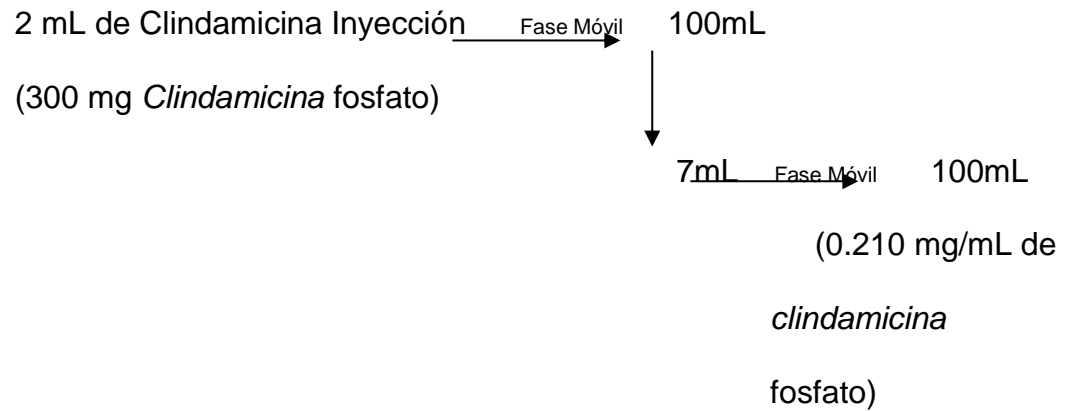
Lo que rotula cada vial: 150.0 mg/mL

Cantidad deseada para el análisis: 300.0 mg

|      |       |          |
|------|-------|----------|
| 1 mL | _____ | 150.0 mg |
| X    | _____ | 300.0 mg |

X = 2 mL de muestra del innovador.

## Preparación de la Muestra



## Cálculos del Ensayo

Formula a utilizar:

$$\text{mg/mL} = \frac{(\text{Amx}) (\text{Cst}) (\text{FD}) (\text{Unidad de dosis})}{(\text{Ast}) (\text{Alícuota tomada}) (1000)}$$

## Producto Innovador

Datos

Área de la muestra (Amx): 955.23

Área del Estándar (Ast): 950.16

Concentración del Estándar (Cst): 240.0 mcg/mL

Pureza del Estándar de Clindamicina fosfato: 99.97 %

Factor de dilución (FD): 1428.57

Unidad de Dosificación: 1 mL

Alícuota tomada: 2 mL

Concentración según vial: 150.0 mg/mL

$$\text{mg/mL} = \frac{(955.23) (240.0 \text{ mcg/mL}) (1428.57) (1 \text{ mL})}{(950.16) (2 \text{ mL}) (1000)}$$

mg/mL = 172.34 mg/mL de Clindamicina Fosfato

24.01 de Clindamicina fosfato equivalen a 21.47 mg de Clindamicina base

24.01 mg de Clindamicina fosfato ————— 21.47 mg de Clindamicina  
base

172.34 mg de Clindamicina fosfato ————— x

X = 154.11 mg de Clindamicina base

Porcentaje sobre lo rotulado =

Concentración según vial ————— 100.0 %

Concentración del ensayo ————— X

150.0 mg/mL ————— 100.0 %

154.11 mg/mL ————— x

X = 102.74 %

## Producto Nacional

Datos

Área de la muestra (Amx): 865.32

Área del Estándar (Ast): 950.16

Concentración del Estándar (Cst): 240.0 mcg/mL

Pureza del Estándar de Clindamicina fosfato: 99.97 %

Factor de dilución (FD): 1428.57

Unidad de Dosificación: 1 mL

Alícuota tomada: 2 mL

Concentración según vial: 150.0 mg/mL

$$\text{mg/mL} = \frac{(865.32) (240.0 \text{ mcg/mL}) (1428.57) (1 \text{ mL})}{(950.16) (2 \text{ mL}) (1000)}$$

mg/mL = 156.12 mg/mL de Clindamicina Fosfato

24.01 de Clindamicina fosfato equivalen a 21.47 mg de Clindamicina base

24.01 mg de Clindamicina fosfato ————— 21.47 mg de Clindamicina base

156.12 mg de Clindamicina fosfato ————— x

X = 139.60 mg de Clindamicina base

Porcentaje sobre lo rotulado =

Concentración según vial ————— 100.0 %

Concentración del ensayo \_\_\_\_\_ X

150.0 mg/mL \_\_\_\_\_ 100.0 %

139.60 mg/mL \_\_\_\_\_ x

X = 93.07 %

**ANEXO N° 4**

**VALIDACION Y CALCULOS DE ENDOTOXINAS**

## **Cálculos para la Validación del Método de Endotoxinas**

Determinación de la Máxima dilución válida (M.D.V.):

$$\text{MVD} = \frac{\text{Límite de Endotoxinas} \times \text{Concentración de Solución de Prueba}}{\lambda}$$

Donde:

Límite de endotoxinas para la Clindamicina: 0,58 UE/mg

Concentración de Solución de Prueba: 600mg/4mL equivale a 150mg/mL

Lambda ( $\lambda$ ): Sensibilidad del reactivo LAL 0,06 UE/mL

$$\text{M.D.V.} = \frac{0,58 \text{ UE/mg} \times 150\text{mg/mL}}{0,06\text{UE/mL}}$$

$$\text{M.D.V.} = 1,450$$



### Cuadro Resumen de la Validación del Método de Endotoxinas

**PRODUCTO:** CLINDAMICINA 600 mg INYECTABLE (INNOVADOR)

**ESPECIFICACION:** Máximo 0.58 UE / mL

**LOTE:** 70948

**SENSIBILIDAD REACTIVO LAL:** 0.06 UE / mL

**VALOR M.V.D.:** Dilución 1: 600

a. Estándar:

| Serie N° | 2( $\lambda$ ) | $\Lambda$ | 0,5( $\lambda$ ) | 0,25( $\lambda$ ) | Control (-) |  |
|----------|----------------|-----------|------------------|-------------------|-------------|--|
| 1        | ( + )          | ( - )     | ( - )            | ( - )             | ( - )       |  |
| 2        | ( + )          | ( - )     | ( - )            | ( - )             | ( - )       |  |

b. Muestra sin adición de endotoxina:

| Diluciones de la muestra |       |       |       |       |        |        |        |         |         |         |          |          |          |
|--------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Serie N°                 | 1 : 1 | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 | 1 : 256 | 1 : 512 | 1 : 1024 | 1 : 2048 | 1 : 4096 |
| 1                        | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - )  | ( - )  | ( - )  | ( - )   | ( - )   | ( - )   | ( - )    | ( - )    | ( - )    |
| 2                        | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - )  | ( - )  | ( - )  | ( - )   | ( - )   | ( - )   | ( - )    | ( - )    | ( - )    |

c. Muestra con adición de endotoxina 10 $\mu$ L del spike):

| Diluciones de la muestra |       |       |       |       |        |        |        |         |         |         |          |          |          |
|--------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Serie N°                 | 1 : 1 | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 | 1 : 256 | 1 : 512 | 1 : 1024 | 1 : 2048 | 1 : 4096 |
| 1                        | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - )  | ( - )  | ( - )  | ( - )   | ( - )   | ( - )   | ( - )    | ( - )    | ( - )    |
| 2                        | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - )  | ( - )  | ( - )  | ( - )   | ( - )   | ( - )   | ( - )    | ( - )    | ( - )    |

CONCLUSION: En la primera parte (a) se confirma la sensibilidad del reactivo LAL. Validar al menos la dilución 1:600

### Prueba Preliminar del Metodo Gel Clot

**PRODUCTO:** CLINDAMICINA 600 mg INYECTABLE (NACIONAL)

**LOTE:**

**ESPECIFICACION:** Máximo 0.58 UE / mL

**SENSIBILIDAD REACTIVO LAL:** 0.06 UE / mL

**VALOR M.V.D.:** Dilución 1: 600

a. Estándar:

| Serie N° | 2( $\lambda$ ) | $\lambda$ | 0,5( $\lambda$ ) | 0,25( $\lambda$ ) | Control ( - ) |
|----------|----------------|-----------|------------------|-------------------|---------------|
| 1        | ( + )          | ( - )     | ( - )            | ( - )             | ( - )         |
| 2        | ( + )          | ( - )     | ( - )            | ( - )             | ( - )         |

b. Muestra sin adición de endotoxina:

| Diluciones de la muestra |       |       |       |       |        |        |        |         |         |         |          |          |          |
|--------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Serie N°                 | 1 : 1 | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 | 1 : 256 | 1 : 512 | 1 : 1024 | 1 : 2048 | 1 : 4096 |
| 1                        | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - )  | ( - )  | ( - )  | ( - )   | ( - )   | ( - )   | ( - )    | ( - )    | ( - )    |
| 2                        | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - )  | ( - )  | ( - )  | ( - )   | ( - )   | ( - )   | ( - )    | ( - )    | ( - )    |

c. Muestra con adición de endotoxina (10 $\mu$ L del spike):

| Diluciones de la muestra |       |       |       |       |        |        |        |         |         |         |          |          |          |
|--------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Serie N°                 | 1 : 1 | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 | 1 : 256 | 1 : 512 | 1 : 1024 | 1 : 2048 | 1 : 4096 |
| 1                        | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - )  | ( - )  | ( - )  | ( - )   | ( - )   | ( - )   | ( - )    | ( - )    | ( - )    |
| 2                        | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - )  | ( - )  | ( - )  | ( - )   | ( - )   | ( - )   | ( - )    | ( - )    | ( - )    |

CONCLUSION: En la primera parte (a) se confirma la sensibilidad del reactivo LAL. Validar al menos la dilución 1:600.

### **Concentración de Endotoxinas en la muestra**

$$\text{Endotoxinas} = (D) \times (S) \times (I)$$

Donde:

D = Última dilución de la muestra con coágulo firme

S = Sensibilidad del Reactivo de LAL

I = Dilución inicial de la muestra. (Opcional) (Si la hubiera)

### **Concentración de Endotoxinas para el Producto Nacional**

Datos:

D = Última dilución de la muestra con coágulo firme es de 600

S = Sensibilidad del Reactivo de LAL es de 0.06

$$\text{Endotoxinas} = (D) \times (S)$$

$$\text{Endotoxinas} = (600 \text{ mg/mL}) (0.06 \text{ EU/mL})$$

$$\text{Endotoxinas} = 36 \text{ mg/mL equivalente a } 0.036 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Nota: 1  $\mu\text{g/mL}$  es equivalente a 10 EU/mL

$$\text{Endotoxinas} = (0.036 \text{ } \mu\text{g/mL}) (10 \text{ EU/mL})$$

$$\text{Endotoxinas} = 0.36 \text{ EU/mL}$$

## **Concentración de Endotoxinas para el Producto Innovador**

Datos:

D = Última dilución de la muestra con coágulo firme es de 600

S = Sensibilidad del Reactivo de LAL es de 0.06

Endotoxinas = (D) x (S)

Endotoxinas = (600 mg/mL) (0.06 EU/mL)

Endotoxinas = 36 mg/mL equivalente a 0.036 µg/mL

Nota: 1 µg/mL es equivalente a 10 EU/mL

Endotoxinas = (0.036 µg/mL) (10 EU/mL)

Endotoxinas = 0.36 EU/mL

**ANEXO N° 5**

**EQUIPOS**

## EQUIPOS



Figura No 12 Agitador Vortex Genie III, Marca Scientific Industries, Modelo G560, utilizado para la Prueba de Endotoxinas



Figura No 13 Agitador Magnético, Marca Acequilabs, Modelo AG-5002, se utilizó para la preparación de medios microbiológicos, y en el ensayo del Producto Innovador y Producto Nacional



Figura No 14 Balanza Analítica, Marca Mettler Toledo, Modelo PCEs-L741, se utilizó para la prueba de densidad y la prueba del ensayo del Producto Innovador y Producto Nacional



Figura No 15 Balanza semianalítica, Marca Mettler Toledo, Modelo AN-7, se utilizó en la preparación de los medios microbiológicos



Figura No 16 Baño de agua calibrado a 37°C, Marca Electrolabs, Modelo 78-543-1, utilizado para la incubación de la prueba de endotoxinas



Figura No 17 Cromatografo HPLC, Marca Perkin Elmer, Modelo 200C, utilizado para la Prueba de Identificación y el Ensayo del Producto Nacional y Producto Innovador





Figura No 17 Cámara de Flujo Laminar Marca CLIMAR SF 524R, Modelo 45CO74-PL, utilizado para la preparación y siembra de las pruebas microbiológicas



Figura No 18 Incubadora Microbiológica Marca TESTMART FI-4126AD32, Modelo E54-T



Figura No 19 pH-metro marca CRISON GLP 22, se utilizó para la medición del pH de la muestra del Producto Innovador y el Producto Nacional