

METODO ANALITICO PARA LA DETERMINACION DE LAMIVUDINA (3TC) EN PLASMA.

Dr. A. S. Padrón*, Dra. M. Castiñeira**, Dr. R. Tápanez***, Lic. A. Tarinas***, Tec. B. López*.

* Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos.

** Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana.

*** Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí.

Resumen

La Lamivudina (3TC) es un antiviral empleado en la terapia del SIDA, inhibidor de la reverso transcriptasa análogo de nucleósido. El objetivo general del presente trabajo fue desarrollar y validar un método para la determinación de este principio activo en plasma con el fin de realizar el estudio de bioequivalencia del mismo. Para la preparación de la muestra del plasma se empleó la extracción en fase sólida y para cuantificar la 3TC se utilizó un método analítico por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (CLAE) en un sistema en fase reversa con detección ultravioleta al cual se le determinaron los parámetros de validación especificidad, linealidad, precisión y exactitud en el rango de concentraciones comprendido entre 3.0 y 51.0 µg/mL. Además se determinaron los límites de detección y cuantificación. El método cumple con los parámetros establecidos y es fiable para el objetivo propuesto.

Introducción.

La aparición anualmente de 2 ó 3 nuevos agentes antivirales desde 1995 ha permitido avances sin precedentes en el tratamiento del virus de inmunodeficiencia humana y en la literatura se ofrecen datos de interés sobre las indicaciones y eficacia de diversas estrategias de tratamiento. La terapia combinada de inhibidores de la reverso transcriptasa y de la proteasas, enzimas fundamentales para la replicación viral, es el esquema más aceptado aunque se encuentran en investigación otros antivirales que actúan en otros sitios del ciclo de vida viral. Sin embargo los medicamentos no están al alcance de todos los portadores de esta enfermedad y algunos países contemplan estrategias que incluye el desarrollo de tecnologías para la producción de estos fármacos.

El objetivo de este trabajo fue validar un método para la determinación de lamivudina en plasma con el fin de realizar el estudio de bioequivalencia de tabletas de este principio activo.

Materiales y Métodos.

Para el desarrollo de este trabajo se empleó materia prima estándar de trabajo de la firma BEBRIL S A (Uruguay), los ensayos fueron realizados en un Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia KNAUER, constituido por: degasificador, bomba de doble pistón recíprocante, detector UV-Vis de longitud de onda variable, inyector automático KONTRON e integrador acoplado a IBM con software EUROCHROM para el procesamiento de datos. Para la cuantificación, se empleó el método de estándar interno. Los reactivos empleados fueron de calidad puros para análisis y los solventes de grado HPLC.

Las condiciones cromatográficas se corresponden con la técnica desarrollada en la UCTB Tecnologías Complejas de CIDEM para el estudio de estabilidad del producto terminado, entre las que se encuentra: fase móvil acetato de amonio 1mmol/L: Acetonitrilo (95:5), longitud de onda del detector 271 nm., columna LiChrosorb RP-18 (5 µm, 250x4 mm), flujo de 1 mL/min y el volumen de inyección fue de 20 µL.

El método de preparación de la muestra utilizado fue la extracción en fase sólida (columna Merck RP-18 de 100 mg de fase estacionaria), para el lavado y acondicionamiento se pasan a través de la columna consecutivamente 1 mL de agua, metanol, Acetonitrilo, agua y octansulfonato de sodio al 1.0 % en agua, para la extracción del analito se pasa a través de la columna un volumen determinado del sobrenadante que resulta de la centrifugación de 1 mL de plasma después de

desnaturalizar con ácido perclórico y finalmente para la recuperación de la lamivudina se pasa a través de la columna 1 mL de agua que se descarta y 500 µL de metanol que se evapora empleando corriente de nitrógeno y se reconstituye con 50 µL de fase móvil del cual se toma el volumen de inyección.

Para validar el método se le determinaron los siguientes parámetros de validación: especificidad, linealidad, precisión y exactitud en el rango de concentraciones entre 3 y 50 µg/mL, así como sus límites de detección y cuantificación. El criterio de aceptación son los descritos en las ICH (ICH 1996). Para evaluar la especificidad se compararon los cromatogramas que se obtuvieron, bajo las condiciones descritas, para las preparaciones de muestras de sustancias químicas de referencia del principio activo, muestras de blancos de plasma y muestras de plasmas contaminados con lamivudina y otros principios activos que pueden ser interferencias potenciales (otros antivirales) después de ser sometidos a condiciones drásticas de hidrólisis ácida o básica (HCl 0.1 mol/L, temperatura de 40 °C por 24 horas) de la disolución, al las cuales se les aplicó el procedimientos de extracción.

Resultados.

Los resultados de validación del método se resumen en la tabla I.

Tabla I. Parámetros de validación del método analítico para la determinación de Lamivudina en plasma.

LINEALIDAD			EXACTITUD							
C (µg/mL)	Señal (meV)	F. R	µg Recuperad.	CV %	Recobrado %					
3.18	2.32	0.729	3.12	1.35	98.11					
6.36	4.62	0.721	6.33	1.19	99.52					
12.75	9.30	0.729	12.86	0.89	101.10					
25.50	18.31	0.717	25.44	0.90	99.76					
51.00	36.60	0.717	51.00	0.74	100.00					
Parámetros de la recta		Cv = 0.23 %	Parámetros de la recta (n=15)		Cv = 1.07 %					
Y = A + BX		R = 0.9999	A = -0.0028	B = 1.0000	R = 0.9999					
A = 0.08673	B = 0.71594	S _{bRe} = 0.23 %	S _A = 0.06499	S _B = 0.00247	S _{bR} = 0.24 %					
S _A = 0.04864	S _B = 0.00185	t _{TAB} = 2.13	t _{aCAL} = 2.	A ± S _{At} = (-0.565; 0.2239)						
t _{aCAL} = 0.	A ± S _{At} = (-1.2012; 0.0371)		t _{TAB} = 2.201	B ± S _{Bt} = (0.9855; 1.0050)						
REPETIBILIDAD										
M	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
%	101.2	98.5	100.2	101.5	102.0	102.2	99.1	98.8	98.4	98.6
Media: 100.056		(S): 1.5456			(CV): 1.5447 %			IC: (97.32; 103.79)		
PRECISION INTERMEDIA							Media	S	CV	
Analista I		12.76	12.72	12.78	12.67	12.62	12.71	0.0655	0.52%	
Analista II		12.61	12.75	12.76	12.67	12.63	12.68	0.0684	0.54%	
F _{Calculada} = 1.04	F _{tabulada} (4/4 GL) 6.39			t _{aCAL} = 0.39		t _{TAB} = 2.31		IC: (12.49; 12.88)		
LIMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN										
C (ng)	402.0	201.0	100.5	50.2	Parámetros de la recta				R	
Señal (media)	20.8	10.8	5.4	2.7	Y = 0.2343 + 0.05139 * X				0.9998	
S	0.513	0.892	0.083	0.055	Y = 0.1109 + 0.00146 * X				0.5709	
Límite de detección: 11.05 ng.					Límite cuantificación: 26.16 ng.					
Conclusión: Cumple con los parámetros establecidos en el rango de concentraciones estudiados.										

CV - Coeficiente de Variación, FR – Factor de repuesta, S – Varianza, IC – Intervalo de confianza

En los cromatogramas del estudio de especificidad no se observaron interferencias en el tiempo de retención correspondiente al principio activo en ninguna de las muestras estudiadas.

Discusión.

En el estudio de linealidad, los factores de respuestas fueron semejantes entre sí y similar al valor de la pendiente de la recta de regresión, el coeficiente de variación de éstos fue menor que el 2%. El coeficiente de correlación de la recta de regresión es mayor que 0.999 y se cumple el test estadístico de este coeficiente t_c ($t_c > t_{tab}$) para un nivel de confianza de $p=0.05$ con $n-2$ grados de libertad y se rechaza la hipótesis nula de no-correlación entre la concentración y la señal. La desviación estándar relativa de la pendiente S_R al aplicarse el test de proporcionalidad resultó no significativo ($S_R < 2.0\%$). El intervalo de confianza del intercepto incluye el valor cero por lo que cumple el test de proporcionalidad.

Los resultados de los estudios de exactitud muestran un recobrado entre 98-102 % con coeficientes de variación (CV_R) menor que el 2 %, el test de significación para un nivel de confianza de $P=0.05$ con $n-1$ grados de libertad demostró que no hubo diferencias significativas entre el recobrado medio y el valor aceptado como referencia. El coeficiente de correlación de la recta de regresión es mayor que 0.999 y al igual que en el estudio de la linealidad cumplió el test de significación de este coeficiente y el test de proporcionalidad. El intervalo de confianza del intercepto y la pendiente incluye el valor cero y uno respectivamente, lo que denota la ausencia de error proporcional y error constante.

Los resultados del estudio de precisión mostraron que el coeficiente de variación en el ensayo de repetibilidad cumple con lo establecido de ser menor del 2 %. El ensayo de precisión intermedia mostró que no existen diferencias significativas entre las precisiones alcanzadas por dos analistas al efectuarse una prueba de significación de Fisher. De la misma forma no existieron diferencias significativas entre las medias obtenidas por ellos, demostrado por la prueba de significación de t para un nivel de confiabilidad de $P=0.05$ con $n-1$ grados de libertad.

Los resultados de la determinación de los límites de detección y de cuantificación estimados a partir de la recta de regresión, considerando concentraciones bajas de los contaminantes, por extrapolación a concentración cero muestran que los valores alcanzados (en el orden de 10^{-5} a 10^{-8} mol/L para un volumen de inyección de 20 μ L) son aceptables y adecuados para la determinación de lamivudina a niveles de concentración plasmática, lo que nos permite el empleo de este método para el estudio de bioequivalencia de este medicamento.

El hecho de que en los cromatogramas de las muestras de blancos de plasma y de las muestras de blancos contaminados con sustancias activas que pueden estar presentes en plasma de los pacientes, como otros antivirales en la terapia combinada, no exhiben señales en el tiempo de retención correspondiente al del principio nos autoriza a señalar que el método seleccionado es específico para la determinación del analito en presencia de éstos. Este análisis es válido además para la determinación las sustancias activas en presencia de los productos de degradación por hidrólisis de los contaminantes.

Bibliografía.

1. ICH. Guideline on Validation of Analytical Procedures; Definitions and Terminology; Availability". US Department of Health and Human Services, Federal Register, March 1995.
2. ICH. Guideline on Validation of Analytical Procedures; Methodology". November 1996.
3. Harris M., Durakovic S., Rae S., Raboud J., Fransen S., Shillington A., Conway B., Montaner J. A pilot study of nevirapine, indinavir, and lamivudine among patients with Advanced human immunodeficiency virus disease who have had failure of combination nucleoside therapy. J Infect Disease. 1998; 177: 1514-1520.

4. MartinDale,. The Extra Pharmacopeia. 33th Edition London. The Pharmaceutical Press.1999; 750-753.

Evento: CUBAFARMACIA 2002

Estudios de Estabilidad de los Productos del CENSA.

Autores: Arsenio Betancourt, María del C. Travieso, Alejandra Villoch, Ivette Espinosa y Maite Lorenzo.

Institución: Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA)

Dirección: Carretera de Jamaica y Autopista Nacional, apartado 10, San José de las Lajas, La Habana.

Email arsenio@censa.edu.cu

INTRODUCCIÓN

Los estudios de estabilidad permiten establecer el tiempo de validez que posee un producto y es una garantía de que conserva las propiedades para lo cual fue diseñado y fabricado. La estabilidad también ofrece información sobre las condiciones de manejo, conservación y transportación de los productos, de manera que se toman las precauciones necesarias para evitar el deterioro del mismo.

OBJETIVOS

Establecer los procedimientos para llevar a cabo los estudios de estabilidad de los productos y controlar los mismos en la fecha de vencimiento. Realizar estudio de estabilidad de un diagnosticador para uso humano.

MATERIALES Y METODOS.

Se establecieron 3 procedimientos para ejecutar los estudios de estabilidad, se consideraron el protocolo e informe de resultados como parte de documentación del expediente del estudio. Además se confeccionaron los registros necesarios para los datos primarios, cálculos y resultados obtenidos. Se confeccionó el protocolo para el estudio de estabilidad de un diagnosticador que esta en fase de mejoramiento del producto, considerando la estabilidad en tiempo de uso, como evaluación del mismo diagnosticador de forma repetida hasta su agotamiento durante 2 meses, como criterio de aceptación se consideraron las especificaciones del producto como son las características organolépticas y de funcionamiento del diagnosticador, dando por terminado el estudio antes de la fecha prevista, en los casos que no se cumpla al menos 1 de las especificaciones establecidas. Se estudio la estabilidad en anaquel durante 24 meses de 3 lotes del diagnosticador, considerando los mismos requisitos de aceptación que los establecidos para la estabilidad en uso. En cada lote estudiado se evaluaron 2 tratamientos diferentes, el primero con la formulación establecida y el segundo con adición de sustancia protectora, dirigida al incremento de la estabilidad del producto que actualmente tiene un tiempo de validez de 8 meses.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Referidos a los procedimientos confeccionados. (1, 2, 5)

Se organizó la actividad de acuerdo a la etapa de desarrollo del producto. Los estudios se realizarán durante la etapa de investigación para fines de ensayo clínico, en el inicio de la fase de producción para escalado y registro del producto, mientras que una vez establecido su producción, los estudios de estabilidad serán para ampliar los períodos de validez del mismo. Se estableció los requisitos de temperatura para los estudios de estabilidad acelerada de nuevos productos (4), así como la frecuencia de las evaluaciones para la estabilidad acelerada y en anaquel. Otros aspectos como los estudios durante la transportación y la estabilidad en uso para los productos de dosis múltiples fueron establecidos en los documentos. Se proponen períodos de validez para inyectables entre 50 – 70% del tiempo real determinado y para diagnosticadores entre un 80 – 90%. Para el control de los productos en su vencimiento se establecieron las especificaciones para dichos casos, siendo necesario en ocasiones determinar productos de degradación, se orientó sobre la conducta de análisis y desarrollo de investigaciones para los productos que tienen una fecha de vencimiento inferior a la establecida por estudio de estabilidad.

Estabilidad del diagnosticador bajo estudio. (3, 6)

El estudio de estabilidad en uso resultó satisfactorio durante el período programado de 2 meses, cumpliendo las especificaciones del producto.

La estabilidad en anaquel del diagnosticador se mantuvo hasta los 8 meses, cumpliendo las características organolépticas y funcionamiento, donde se evaluaron el reconocimiento de controles positivos, negativos así como ausencia de reacciones cruzadas. Además fue verificado el límite de detección del ensayo y el reconocimiento de muestras clínicas patológicas y negativas. Se alcanzó igualar el tiempo de vencimiento establecido este diagnosticador y se continuará su estudio hasta los 24 meses según cronograma. Como los 2 tratamientos propuestos para cada lote, no han ofrecido resultados diferentes, no podemos afirmar un efecto positivo de las sustancias protectoras, sin embargo en nuestra opinión este efecto se mostrará cuando la estabilidad rebase los 18 meses del estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. International Conference on Harmonization, Final Guideline on Stability Testing of Biotechnological Products: 1996. Appendix IV, page 725 – 730.
2. Regulación 16: 2000. CECMED. Buenas Prácticas para la Fabricación de Productos Farmacéuticos.
3. Regulación 20: 2000. CECMED Buenas Prácticas para la Producción de los Diagnosticadores.
4. Regulación 23: 2000. CECMED Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos nuevos y conocidos.
5. Regulación 24: 2000. CECMED Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de nuevos ingredientes farmacéuticos activos.
6. Regulación 25: 2000. CECMED Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos biológicos y biotecnológicos.

ESTUDIO ANALITICO DE LA 4-(2-nitro)-aril-5-etoxicarbonil-6-metil-3,4-dihidro-2-(1H)-piridona.

Idania Carrillo Adams, Ana Margarita Esteva Guas, Margarita Suárez Navarro*, Estael Ochoa Rodríguez*, Yamila Verdecia Reyes*

Dpto. de Química Analítica. *Laboratorio de Síntesis Orgánica, Fac. Química. Universidad de la Habana.

INTRODUCCION

Las enfermedades cardiovasculares se encuentran hoy en día entre las principales causas de mortalidad en el mundo. Por esto, muchos grupos de investigación se han dedicado a la obtención de compuestos que puedan ser empleados en el tratamiento de las mismas, lo cual ha permitido la obtención de una gran cantidad de compuestos que ya han sido evaluados y comercializados. Tal es el caso de la Nifedipina, compuesto heterocíclico que pertenece a la familia de las 1,4-dihidropiridinas, las cuales se han convertido en fármacos indispensables para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Las mismas han tomado gran auge desde que se conocen sus propiedades como moduladores del ion calcio.

Las 2-(1H)-piridonas se encuentran también entre los compuestos heterocíclicos empleados en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares. La introducción en la clínica de compuestos que reduzcan la entrada de calcio al interior de la célula muscular lisa vascular, induciendo vasorrelajación y un cierto efecto depresor de la acción cardíaca ha creado expectativas muy prometedoras en la búsqueda de fármacos que puedan emplearse en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y cuyos efectos sean más positivos que los establecidos para los calcio-antagonistas. Ensayos bioquímicos realizados evidenciaron actividad biológica en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares en la 4-(2-Nitrofenil)-5-carboniletoxi-6-metil-3,4-dihidro-2(1H)-piridona (PE-2NO₂). En este trabajo se lleva a cabo un estudio analítico de esta 2(1H)-Piridona sintetizada²⁻⁴ por el Laboratorio de Síntesis Orgánica de la Facultad de Química de la cual no existe reporte en la literatura. Por su similitud en estructura se toma como referencia a la Nifedipina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los métodos empleados fueron la Espectrofotometría UV - VIS, la Polarografía Diferencial de Pulso y la Voltametría de Barrido Rápido. Se utilizó un Espectrofotómetro de doble haz Milton Roy, modelo Spectronic 3000, con registro automático incorporado, utilizando celdas de cuarzo de 1cm de paso óptico.

Para el análisis polarográfico se empleó un METROHM, compuesto de procesador 646VA y stand 647VA provisto de tres electrodos (Ag/AgCl /KCl 3 mol/L, Pt de 2 x 65mm y el goteador de mercurio con una área de gota aproximada de 0.40 mm²); también se utilizó un potencióstato/galvanostato serie PG28 Hela elektronik, al que se le acoplan tres electrodos (Pt, calomel y carbón vítreo de 6mm de diámetro).

Se utilizaron soluciones tampones de Fosfato y de Britton-Robinson (BR) 0.04 mol/L de pH 1.8, a partir de las cuales se preparan otras de diferentes valores de pH comprendidos entre 2 y 12, controlando el pH con un equipo adecuado. El oxígeno de las disoluciones fue eliminado haciendo pasar N₂ gaseoso de 99.99 % de

pureza certificada durante 20 minutos antes de hacer las mediciones correspondientes. Soluciones patrones de concentración 5×10^{-3} mol/L, preparadas a partir de los principios activos.

RESULTADOS Y DISCUSION

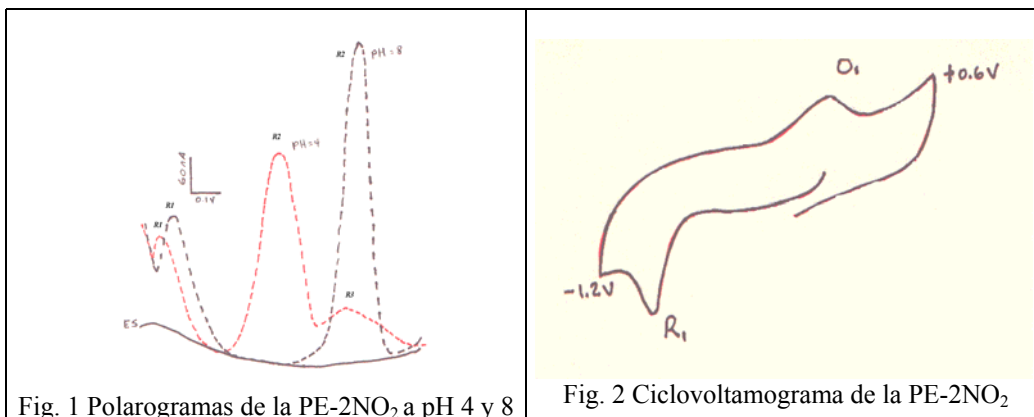
El espectro de absorción obtenido de la PE-2NO₂ de concentración 5.0×10^{-5} mol/L en solución acuosa presentó un máximo de absorción alrededor de 277nm. Al estudiar la posible modificación del espectro al variar el pH en tampón BR desde pH 2 a 12, se observó que dicho máximo de absorción aumentaba al aumentar el pH del medio, de igual forma se observó la aparición de una banda a pH alcalino entre los 215 y los 223nm. Este comportamiento es muy similar al que se observó en la nifedipina.

Se estudió la influencia de la concentración sobre la longitud de onda del máximo de absorción. La curva de calibración obtenida cumple con la ley de Lambert-Beer, comprobándose que el intercepto no es significativo.

Estudios realizados por polarografía diferencial de pulso sobre un electrodo de gotas de mercurio, pusieron de manifiesto que en medio ácido preferentemente el compuesto presenta tres ondas de reducción, lo que coincide además con el comportamiento reportado para la nifedipina en dicho medio, mientras en medio básico se definen dos ondas, como se observa en la figura 1. Las señales obtenidas son afectadas tanto en su intensidad como en su potencial de pico al variar el pH del medio. La morfología del registro obtenido orienta a posibles dificultades en la medida de la intensidad límite de la primera onda (R_1) y a su posible falta de reproducibilidad. Estos aspectos apuntados se pusieron de manifiesto al estudiar la influencia que sobre la señal analítica tenía la concentración del compuesto. La existencia de una relación lineal entre la intensidad máxima de la segunda onda (R_2), y la concentración puede ser utilizada como método analítico para la determinación del mismo en el medio estudiado.

Los factores experimentales que afectan a la intensidad máxima son estudiados por esta técnica. En primer lugar se estudia la influencia del área del electrodo sobre la intensidad de pico, variándose el tiempo de goteo. Teniendo en cuenta estos resultados podemos concluir que la intensidad máxima del pico R_2 es proporcional al área del electrodo. Al estudiar la amplitud del impulso, se observó un aumento exponencial de la intensidad de la onda R_2 al aumentar la amplitud, lo que podría indicar que el sistema no es reversible. La velocidad de barrido no tiene una influencia apreciable sobre la intensidad ni sobre el potencial de pico en cada una de las disoluciones estudiadas.

La voltamperometría de barrido rápido del potencial es muy útil para estudiar las características del proceso electroquímico. La misma permite establecer el tipo de control que sufre el proceso electroquímico. Al iniciar el barrido de reducción a un potencial inicial de 0V, se pone de manifiesto la presencia de dos picos R_1 y O_1 , como pueden observarse en la figura 2, estos modifican su potencial con el pH del medio. Por otro lado se obtienen los mismos picos al realizar el barrido de oxidación a -0.7 V como potencial inicial. La morfología de estos picos se mantiene prácticamente igual aún cuando se modifique el sentido del barrido. La velocidad de barrido en el pico R_1 de interés analítico fue analizada a pH 3, 5 y 8. La representación del logaritmo de la intensidad de pico frente al logaritmo de la velocidad de barrido, mostró que los valores de las pendientes están por encima de 0.5.



Con los resultados obtenidos se pudo llegar a las siguientes conclusiones:

- El compuesto estudiado presenta una sola banda de absorción a 278nm que aumenta con el pH del medio.
- Se obtienen dos ondas de reducción por polarografía diferencial de pulso a pH > 4 y tres a pH inferiores, las que modifican su intensidad y su potencial de pico con el pH del medio.
- Las señales estudiadas tanto por polarografía diferencial de pulso como por espectrofotometría varían linealmente con la concentración del compuesto en disolución.
- Los resultados obtenidos por voltametría de barrido rápido de potencial indicaron que el proceso está controlado por difusión y adsorción simultáneamente.

BIBLIOGRAFIA

- [1] S. Goldmann, J. Stoltefuss, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1991; **30**: 1559.
- [2] Y. Verdecia, M. Suárez, A. Morales, E. Rodríguez, E. Ochoa, L. González, N. Martín, M. Quinteiro, C. Seoane, J. L. Soto, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, 1996; 947.
- [3] E. Ochoa, M. Suárez, Y. Verdecia, B. Pita, N. Martín, M. Quinteiro, C. Seoane, J.L. Soto, J. Duque, R. Pomés *Tetrahedron*. 1998; **54**: 12409.
- [4] M. Suárez, Comunicación Personal, 2000.

Metodologías para garantizar la confiabilidad de los resultados analíticos en los Laboratorios de Ensayo de la rama Farmacéutica.

Autores: Arsenio Betancourt, María del C. Travieso, Alejandra Villoch, Nuria Dávila y Arturo Escobar.

Institución : Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. (CENSA)

Dirección: Carretera de Jamaica y Autopista Nacional, apartado 10 , San José de las Lajas , La Habana.

Email arsenio@censa.edu.cu

RESUMEN

Se confeccionaron procedimientos para las actividades de validación de los métodos analíticos, elaboración de materiales de referencia (MR), control interno de la calidad y determinación de la incertidumbre para los métodos cuantitativos, considerando las relaciones entre los procedimientos logrando un sistema sencillo de aplicar. La aplicación de éstos por un laboratorio de ensayo en fase de Acreditación, permitió completar los requisitos de validación, se determinó la incertidumbre de los métodos, se aplicó un programa de control interno de la calidad, que apoyó junto a la elaboración de 4 MR de trabajo, la participación en un ensayo colaborativo de alcance Nacional, aplicando el control externo.

INTRODUCCION

La validación de los métodos analíticos, demuestra el cumplimiento de los requisitos del diseño y se obtienen resultados de referencia, para el programa de control interno del trabajo diario. Los MR se utilizan en la validación y también en el control interno y externo de la calidad. La determinación de la incertidumbre en los métodos analíticos ofrece el valor del resultado analítico y el rango de variabilidad.

OBJETIVOS

- Diseño y documentación de metodologías aplicadas a métodos analíticos para la validación, control interno, elaboración de materiales de referencia y determinación de la incertidumbre, esta última en los métodos cuantitativos. Aplicación de los procedimientos diseñados por un laboratorio de ensayo en fase de Acreditación (CENLAC), para incrementar la confianza de los resultados analíticos y cumplir con las normas vigentes.

MATERIALES Y METODOS

Actividades del grupo de Aseguramiento de la Calidad del centro.

Se organizó un programa para confeccionar los procedimientos y los registros necesarios que describen las actividades de validación, control interno de la calidad, elaboración de MR y determinación de la incertidumbre. Se consideraron los vínculos necesarios entre los procedimientos para su aplicación en forma de sistema.

Actividades del laboratorio de ensayo (CENLAC).

Plan anual de validación, elaboración de MR, determinación de la incertidumbre y un programa de control interno. Fueron identificadas las oportunidades para participar en ensayos colaborativos, como aplicación del control externo de la calidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados relacionados a los procedimientos confeccionados por el grupo de calidad.

Validación de los métodos analíticos.

- Clasificación del método e indicadores a evaluar: Se complementaron los criterios de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) y la Conferencia Internacional de Harmonización (ICH) (12). Se conformaron 3 grupos acorde a las características del método y se establecieron los indicadores a evaluar
- Principales aspectos de los indicadores a evaluar (3,6)

Exactitud: Se compara el método evaluado con otro de referencia y se debe encontrar alta correlación entre sus resultados. Se puede aplicar MR y no debe existir diferencias entre los resultados del método evaluado y los valores reportados del MR. Por último se propone la adición de cantidades conocidas del analito a muestras y el análisis del recobrado

Linealidad: Demostración de regresión lineal entre la concentración del patrón y la medición realizada y determinación de la recta de mejor ajuste, con un intercepto que no difiera de cero. Los coeficientes de correlación y determinación ≥ 0.99 y 0.98 respectivamente y el coeficiente de variación (CV) de la pendiente de la recta $\leq 2\%$.

Precisión: Estudios de repetibilidad para condiciones de trabajo diario y condiciones intermedias, con las fuentes de variación; analista, diferentes lotes de reactivos, diferente calibración de equipos o diferente equipo y diferente tiempo (días). Se determina el CV y el rango crítico (rc) = $ds \times Ft$, donde Ft es un factor tabulado para diferentes números de réplicas (7) El rc establece la diferencia permisible entre réplicas y será aplicado como control interno de la precisión del resultado.

Control Interno de la Calidad

Actividad de *Prevención* dirigida a disminuir los errores analíticos. El analista chequea los puntos críticos del ensayo. El Jefe del laboratorio supervisa datos originales, cálculos e informes y verifica la capacidad técnica del analista, incluyendo muestras ciegas y evaluaciones teórico-práctica. La actividad de *Corrección* comprende análisis estadísticos de los resultados, detectando errores y tendencias. Se controlan los índices de exactitud y precisión, para demostrar que el método está bajo control. Los gráficos de control propuestos resultan prácticos para estos fines.(2,5,11)

Materiales de Referencia de Trabajo.

Metodología a seguir para elaborar los candidatos a MR, se destaca la caracterización del material, los estudios de homogeneidad y estabilidad y la documentación acorde a las regulaciones vigentes (4, 8,9).

Determinación de la Incertidumbre

Aplicación de 2 variantes de cálculo para métodos que responden a una norma o documento de una organización con reconocimiento internacional (A) y para ensayos que no proceden de norma oficial o que fue objeto de modificación (B).La variante A fue la más utilizada y consistió en determinar la

desviación estándar (ds) de un grupo de réplicas en días diferentes ($n \geq 30$) de una misma muestra o muestras diferentes y se calculó la incertidumbre como $2 \times ds$, siendo 2 un factor de cobertura.(1, 10)

Resultados del laboratorio de ensayos CENLAC

Se completó la validación de la precisión de 15 métodos normados, el coeficiente de variación (CV) fue inferior al 20% en los ensayos microbiológicos, con un $CV < 7\%$ para los físico – químicos y se destacan los métodos físicos con un $CV < 3\%$. Se obtuvieron 4 MR para ensayos microbiológicos de la leche, utilizados en estudio colaborativo de carácter nacional, como aplicación del control externo de la calidad. Para los métodos cuantitativos, se incluyeron el resultado y su incertidumbre en el informe técnico al cliente. Se disminuyeron indirectamente los costos de los ensayos porque se conoce la característica del ensayo disminuyendo la posibilidad de errores, la decisión de aceptar el resultado se basó en criterios estadísticos sencillos y concretos del control interno, llevando a una disminución del número de reprobaciones. Se incrementó el prestigio del laboratorio frente a la organización y los clientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Eurachem/ CITAC/ second edition GUIDE: 2000. Quantifying Uncertainty in analytical measurement.
2. Hinckley. C.: 1997. Defining the best quality – control systems by design and inspection. Clin. Chem. 43: 5, pp 1 – 8.
3. Introducción a la HPLC. Aplicación y Práctica. Edit. Artes Gráficas Farro Argentina: 1992. Validación de Métodos, capítulo. 12.
4. ISO GUIDE 35: 1989. Certification of reference materials. General and statistical principles.
5. ISO. 8258: 1991. Shewhart Control Charts.
6. ISO 5725 – 3: 1994. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 3. Intermediate measures of the precision of a standard measurement methods.
7. ISO 5725 – 6: 1994. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 6. Use in practice of accuracy values.
8. Miriam Díaz, Idania Hernández, Marcia Martínez, María V. Licea, Lilaida Gómez, Gloria Louro, Yelma Morera y Esther Gonzalez: 1998. Validación de técnicas analíticas utilizadas en el control de la calidad. Rev. Cub. Farm. 32 (2): 106 – 112.
9. NC/ ISO/ GUIA 34: 1998. Lineamientos del sistema de calidad para la producción de materiales de referencia.
10. NMKL. Procedure no 5 version 1: 1997. Estimation and expression of measurement uncertainty in chemical analysis.
11. Rita Sosa, Delgado. G, Natacha Romero, Dulce Delgado e Hilda Suárez: 2001. Estadística de la calidad en los laboratorios. Normalización 22, no 2.
12. USP XXIII: 1995. Validation. General Chapters, pp 1982 – 84.

Desarrollo de una técnica analítica para la evaluación de las microcápsulas de Bisacodilo.

Autores: MSc. Pérez I.¹; Dra C. González HM.¹; MSc. Contreras J.²; Lic. Vázquez M.¹

Instituciones: 1- Universidad de la Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos, 2- Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC).

Resumen: Se diseñó y validó una técnica analítica por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR) para la valoración e identificación de las microcápsulas entéricas de Bisacodilo, producto novedoso elaborado por miembros de nuestro colectivo, el cual no poseía método analítico para su caracterización química. Durante el desarrollo del trabajo se establecieron los parámetros adecuados para llevar a cabo el procedimiento diseñado; pudiéndose determinar de forma conjunta el polímero de cubierta y el fármaco microencapsulado. Posteriormente se estudió la estabilidad en el tiempo del Bisacodilo ante la acción de algunos factores degradantes (medio ácido, básico, oxidante y la temperatura) comprobándose en todos los casos la presencia de productos de degradación; lo cual nos permitió concluir que el método diseñado es útil para realizar el análisis de la estabilidad de las microcápsulas. Por último se efectuó el estudio de estabilidad de la solución que contiene la muestra de las microcápsulas a analizar en el tiempo, comprobándose que la misma es estable durante 24 horas.

Introducción: El análisis de los productos farmacéuticos resulta un aspecto obligado como parte del control y aseguramiento de la calidad de estos materiales(1). Dentro de ellos, los productos microencapsulados constituyen materiales donde este tipo de estudio se realiza de forma rigurosa, debido a que los fármacos pueden sufrir degradación durante el proceso de microencapsulación (2). Por lo general, para estos estudios se recurre a técnicas específicas que sean capaces de diferenciar al fármaco que se está analizando de sus productos de degradación y de las sustancias auxiliares utilizadas en el proceso (3). El Bisacodilo es un laxante que se utiliza frecuentemente (4), para el cual la forma de microcápsulas constituye una forma novedosa, lo cual hizo que nuestro colectivo de trabajo se trazara como objetivo diseñar y validar una técnica analítica por CLAR que permita avalar la calidad de dicho producto.

Materiales y Métodos: Para el desarrollo del trabajo se utilizó un HPLC LKB BROMMA 2150; teniendo como fase móvil una mezcla de acetonitrilo: buffer fosfato de potasio (0.01 mol/L) de pH 5 en una proporción de (60:40) con una columna de fase reversa (RP 18) Spherosol de 5 μ m, (250 x 4 mm). El volumen de la muestra inyectado fue de 25 μ L; manteniendo el flujo en 1 mL/min. La detección se realizó por espectrofotometría UV a 225 nm. Los parámetros evaluados para la validación del método fueron: linealidad, exactitud, precisión intermedia, repetibilidad y sensibilidad (5). Para la especificidad, las muestras fueron sometidas a condiciones degradativas de hidrólisis ácida, básica, oxidación y térmica durante 7 días.

Resultados y Discusión: La tabla 1 resume los resultados alcanzados para los parámetros de la validación. En cada uno de ellos se aprecia un total cumplimiento de las exigencias establecidas, al igual que en los estadígrafos calculados en cada uno de los casos.

Con relación a la especificidad, se comprobó que el acetofalato de celulosa, polímero que compone la cubierta de las microcápsulas, no interfiere en el análisis del fármaco al poseer ambos materiales tiempos de retención diferentes (1.5 min y 4.20 min respectivamente).

Tabla 1. Resultados de la validación de la técnica de CLAR.

Parámetros	Límites	Resultados
Linealidad	- $r > 0.99$ - $r^2 > 0.98$ - $t_{\text{intercepto}} < t_{\text{critica}}$ - $t_{\text{pendiente}} > t_{\text{critica}}$	- $r = 0.999$ - $r^2 = 0.999$ $t_{\text{intercepto}} = 0.666$ $t_{\text{pendiente}} = 55.825$ $t_{\text{critica}} (n=3 \alpha = 0.05) = 3.18$
Repetibilidad	$CV \leq 1.5 \%$	$X = 20\mu\text{g/mL}$ $X = 30\mu\text{g/mL}$ $X=40 \mu\text{g/mL}$ $CV = 0.35 \%$ $CV = 0.39 \%$ $CV = 0.77 \%$
Precisión intermedia	$CV \leq 1.5 \%$ $t_{\text{exp}} < t_{\text{critica}}$.	$CV = 0.87 \%$ $t_{\text{exp}} = 0.797$ $t_{\text{critica}} (n=10 \alpha = 0.05) = 2.228$
Exactitud	$CV \leq 1.5\%$ $R^2 97-103\%$ $G_{\text{exp}} < G_{\text{critica}}$ $t_{\text{exp}} < t_{\text{critica}}$	$R^2 = 100.82 \%$ $CV = 1.21 \%$ $G_{\text{exp}} = 0.575$ $G_{\text{critica}} = 0.871$ $t_{\text{exp}} = 1.178$ $t_{\text{critica}} (n=7 \alpha = 0.05) = 2.306$
Sensibilidad	- $r > 0.99$ - $r^2 > 0.98$ - $t_{\text{intercepto}} < t_{\text{critica}}$ - $t_{\text{pendiente}} > t_{\text{critica}}$	- $r = 0.999$ - $r^2 = 0.999$ $t_{\text{intercepto}} = 0.263$ $t_{\text{pendiente}} = 61.754$ $t_{\text{critica}} (n=10 \alpha = 0.05) = 2.228$ $LD = 0.117 \mu\text{g/mL}$ $LC = 0.123 \mu\text{g/mL}$
Especificidad	No interfieren las sustancias auxiliares y productos de degradación.	Responde

El análisis de las muestras degradadas permitió conocer que el Bisacodilo presenta varios productos de degradación. Algunos parecen ser sustancias intermediarias; lo que sugiere un proceso degradativo mediado por reacciones consecutivas. En cuanto a la estabilidad se comprobó que la solución del fármaco es estable durante al menos 4 días (figuras 1 y 2).

Finalmente, se efectuó el análisis de las microcápsulas en la cual se pudo analizar de forma conjunta el polímero de cubierta y el fármaco con resultados positivos.

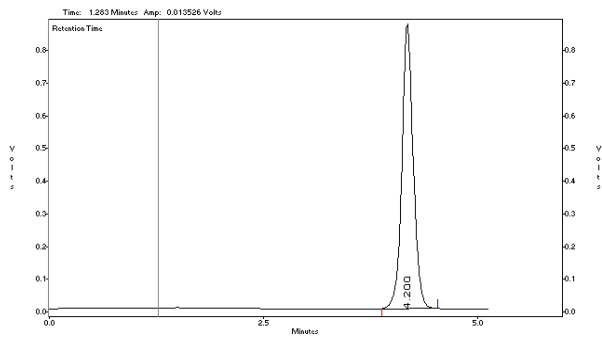


Figura 1 Cromatograma correspondiente a la solución de bisacodilo recién preparada.

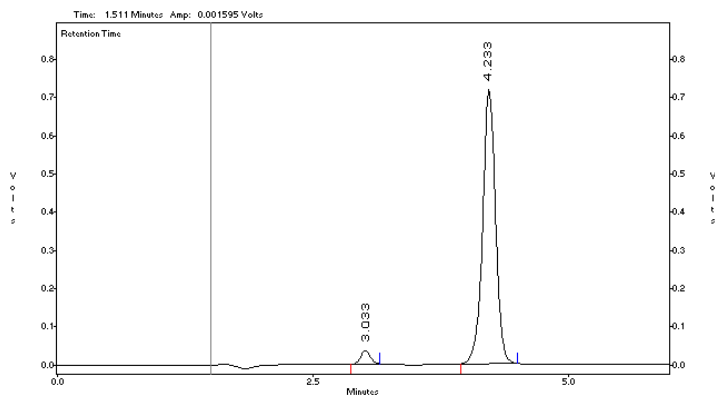


Figura 2 Cromatograma correspondiente al análisis de la solución de bisacodilo a los 6 días.

Bibliografía.

- 1-United States Pharmacopeia. (USP XXIV). The National Formulary. Edition 19th. Editor Rand Mc Nally .2000
- 2- Deasy, P.B. Microencapsulation and related process. Ed. Marcel Dekker. Inc. New York p 1-4. 1984.
- 3- Doelker, E. Ene technique ricente in pharmacie galenique. Le microcapsulage. Pag 623 - 627. 1990.
- 4-Martindale. The extra pharmacopeia. Ed. 30th. Pag 343 - 348. 1993.
- 5- Validación de procedimientos analíticos: Metodología. ICH. Nov. 1996.

Comparación del perfil de disolución de tabletas de captopril 25 mg de producción nacional con la formulación de referencia y otras formulaciones genéricas comerciales.

Tecnología Farmacéutica y Cosmética

Modalidad: Póster

Expositor: Lic. Janet Lora García

Autores: Lic. Janet Lora García¹, Lic. Yordanka González Merlo¹, Dra. Rosa M. Hernández Martín², Dr. Ulises Jáuregui Haza¹, Lic. Reinaldo García Pereira³, Lic. Nicté González³, Dra. Hilda M. González San Miguel⁴

1- Centro de Química Farmacéutica. Calle 200 y 21, Atabey, Playa; P.O. Box 16042, Ciudad de La Habana, Cuba,

C.P.11600 Telef.: (537) 21 7822 / 217809 / 217925. Fax: (537) 33 6471. E-mail: janet@cqf.co.cu

2- Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco, España

3- Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos, Cuba

4- Instituto de Farmacia y Alimentos, Cuba

RESUMEN

El captopril es un inhibidor competitivo específico de la enzima convertidora de la angiotensina I en angiotensina II con efecto cardioprotector. Está indicado para el tratamiento de la hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca congestiva, nefropatía diabética y post-infarto del miocardio. Durante los últimos años, se ha fomentado el uso de medicamentos genéricos, entre los que se destacan las formulaciones de captopril. Con el objetivo de comparar el comportamiento “in vitro” de una formulación desarrollada en nuestro país, con la de referencia y con las que se comercializan en el mercado español, se llevó a cabo este trabajo. Se validó la técnica espectrofotométrica UV empleada para la determinación de captopril en tabletas y se realizaron los ensayos de disolución para la obtención de los perfiles de disolución de las diferentes formulaciones. Se llevó a cabo un estudio en el que se calcularon los parámetros: tiempo en que se disuelve el 90% de la dosis (t_{90}), eficacia de disolución, tiempo medio de disolución y se realizó la comparación de los valores medios a través de la aplicación de criterios estadísticos. Los resultados demuestran que la formulación cubana, producida en los laboratorios Novatec, cumple con los criterios de similitud establecidos, por tanto se considera equivalente a la formulación de referencia y a otras que se comercializan en el mercado español. La metodología desarrollada permite disponer de un procedimiento estandarizado para la futura evaluación de genéricos respecto a los parámetros internacionales de calidad.

INTRODUCCION

Dado las múltiples discusiones que ha provocado a nivel mundial el uso de los medicamentos genéricos varias investigaciones se han realizado con relación a la eficacia, costo y seguridad de los mismos^{1,2} Entre las pruebas biofarmacéuticas más utilizadas se encuentran los ensayos de disolución, que son también empleados para determinar la similitud de los perfiles de disolución entre diferentes formulaciones y el medicamento de referencia³. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el comportamiento “in vitro” de una formulación de captopril procedente de los laboratorios Novatec, en comparación con la de referencia y con otras formulaciones comerciales, a través de la comparación de sus correspondientes perfiles de disolución.

MATERIALES Y METODOS

Se empleó como formulación de referencia Capoten® y como formulaciones de trabajo tabletas de captopril procedentes de los laboratorios Novatec y otras comerciales: Cinfa, UR, Tamarang, Esteve, Ratiopharm, Alter, Normon, Bexal, Bayvit (25 mg). En la validación de la técnica espectrofotométrica UV para la determinación del contenido del principio activo en las tabletas, se evaluaron los parámetros de linealidad, precisión, selectividad y exactitud, a una longitud de onda de 212 nm^{4,5}. Se realizaron los ensayos de disolución para obtener los perfiles correspondientes a cada formulación y se calcularon los siguientes parámetros: tiempo en que se disuelve el 90% de la dosis (t_{90}), eficacia de disolución (ED) y tiempo medio de disolución (MDT)⁶. Se estudió la homogeneidad entre las dispersiones de los valores medios, utilizando el estadígrafo de Fisher. La comparación entre los valores medios se realizó con la aplicación del estadígrafo de Student (t)⁷.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de la validación de la técnica espectrofotométrica para la determinación de captopril en tabletas se muestran en la tabla 1. Como puede observarse todos los parámetros evaluados se encuentran dentro de los límites de aceptación establecidos.

Tabla 1: Resultados de la validación de la técnica espectrofotométrica

<i>Parámetro</i>	<i>Resultados obtenidos</i>	<i>Criterio de aceptación</i>
Selectividad	Abs. Muestra Placebo = 0,00017	Absorbancia de la muestra placebo igual a cero
Linealidad	r = 0,9999 a = 0,00043 ± 0,00053 b = 3,055 ± 0,223	r > 0,99 a = 0 b ≠ 0
Repetibilidad	1,13 %	≤ 2,0 %
Repetibilidad intermedia	1,22 %	≤ 2,0 %
Exactitud	ta = 1,16 ; tb = 92,59	ta(tab) < 2,365 ; tb(tab) > 2,364

La figura 1 muestra los perfiles de disolución para todas las formulaciones ensayadas y para la referencia.

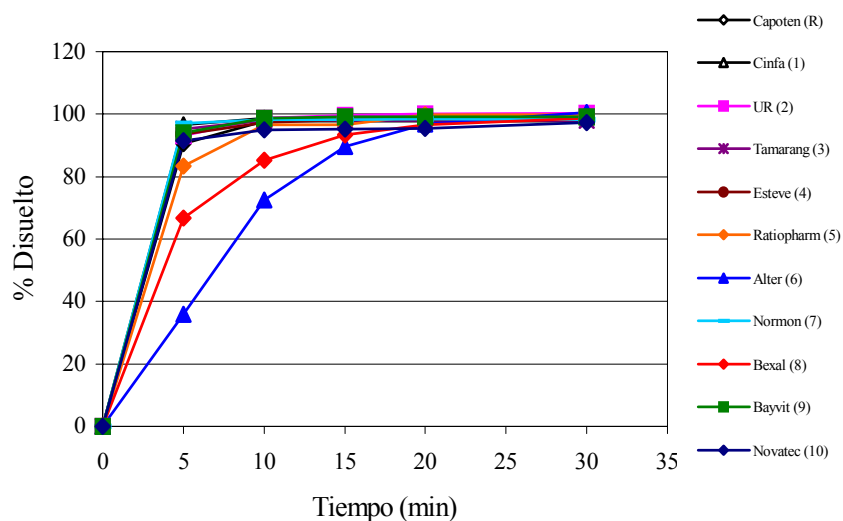


Figura 1: Perfiles de disolución correspondientes a todas las formulaciones de captopril.

Como se observa el perfil de disolución obtenido para la formulación 10, de producción nacional, se superpone con el de la referencia y con los perfiles de la mayoría de las formulaciones comerciales ensayadas, excepto para las formulaciones 5, 6 y 8, donde se observan diferencias (figura 1).

Al analizar los parámetros t_{90} , ED y MDT (Tabla 2), puede observarse que los valores obtenidos para la formulación 10 son semejantes a los obtenidos para la formulación R, resultado que fue corroborado mediante las correspondientes pruebas estadísticas, no mostrando diferencias significativas para los dos niveles de significación evaluados (0,01 y 0,05). Por el contrario, tres de las formulaciones comerciales (5, 6 y 8), mostraron diferencias significativas con relación a la formulación de referencia.

Tabla 2: Valores de t_{90} , ED y MDT, calculados para todas las formulaciones de captopril.

Parámetro	Formulación (ver simbología en fig. 1)										
	R	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
t_{90}	5	5	5	5	5	10	20	5	15	5	5
ED	88,47	90,39	90,33	86,83	89,23	85,50	76,08	89,93	82,93	89,99	86,99
MDT	2,80	2,64	2,99	2,62	2,79	4,14	7,97	2,52	5,15	2,75	2,89

CONCLUSIONES

La técnica desarrollada para la determinación de captopril en tabletas fue válida para el objetivo propuesto.

Los resultados demuestran que la formulación cubana cumple con los criterios de similitud establecidos, por tanto se considera equivalente a la formulación de referencia y a otras formulaciones que se comercializan en el mercado español.

REFERENCIAS

1. Zapater P., Horga J. (2000). Bio-equivalence and generic drugs. Studies of bioequivalence. II. Special situations. Reflections on problems which may arise with drugs habitually used in neurology. *Rev. Neurol.* (Jan) 16-31; 30 (2): 146-54.
2. Nightingale C. H. (2000) A Survey of the Quality of Generic Clarithromycin Products from 13 Countries. *Clin. Pharmacol.* (Abr).
3. CPMP (Committee for Proprietary Medicinal Products). Note for Guidance on the Investigation of bioavailability and bioequivalence. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (1998).
4. Validación de Métodos Analíticos (2001), Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (A.E.F.I): 19-39.
5. Ludwig H., (1998). Validation of Analytical Methods: Review and strategy. *LC-GC Intern.* (Feb): 97-105.
6. Pagán M. (2001) Tratamiento de datos en la comparación de curvas de disolución “in vitro” de formas de liberación inmediata. *Tecnol.Farm.* (jul.-agosto): 72-78.
7. Alpizar J., Iglesias M, (1990) Introducción a la elaboración matemática de los resultados experimentales. Universidad de la Habana: 68-91.

Diseño y validación del método para cuantificar Quitina en un nuevo ungüento rectal.

AUTORES: MSc. Yania Suárez Pérez,¹ MSc. Oscar García Pulpeiro², Lic. Ceyda Emilia Domínguez¹

INSTITUCIONES:¹ Instituto de Farmacia y Alimentos, ² Empresa Laboratorio Roberto Escudero Díaz.

RESUMEN: Se llevó a cabo el diseño y la validación de una técnica gravimétrica directa para la cuantificación de la Quitina presente en un ungüento rectal en fase de desarrollo. Se elaboró a escala de laboratorio ungüento QL y su placebo. Para el diseño del método gravimétrico se ensayaron dos variantes que fueron evaluadas preliminarmente. El análisis de estos resultados permitió seleccionar la metodología a seguir. Se llevó a cabo la validación del método diseñado para control de calidad según los parámetros mínimos exigidos: linealidad, precisión, exactitud y especificidad. El cumplimiento de los criterios establecidos para cada parámetro demostró la validez del método seleccionado. Por último se realizó el control de calidad tecnológico y el control químico para ambos principios activos obteniendo resultados satisfactorios.

INTRODUCCION: El ungüento QL desarrollado por Suárez y col¹, está constituido por dos principios activos: la Quitina por su probado efecto como acelerador de la cicatrización y el Clorhidrato de Lidocaína, anestésico local, en una base de tipo oleaginoso. Con el propósito de completar el desarrollo de las técnicas analíticas necesarias para llevar a cabo el control de calidad químico de esta formulación y teniendo en cuenta la importancia que tiene en la actualidad la validación de los métodos de análisis, nos propusimos diseñar y validar un método gravimétrico directo para cuantificar la Quitina en el ungüento QL considerando la experiencia que existe con otras formas terminadas y realizar el control de calidad tecnológico y químico al producto terminado.

MATERIALES Y METODOS:

Elaboración del ungüento QL : Se elaboró un lote de ungüento y otro placebo según el método descrito por Méndez y col, 2000².

Diseño del método gravimétrico para cuantificar Quitina en el ungüento QL: Método I: pesar 2g del ungüento en un tubo de centrífuga de vidrio de 10 ml, añadir 5 mL de cloroformo y 3 mL de n-hexano, calentar suavemente en baño de agua hasta fusión de los componentes de la formulación, Centrifugar por 10 minutos a 3 500 rpm, decantar el sobrenadante. filtrar al vacío sobre filtros Goch previamente pesados(P_i), lavar los residuos con 3 fracciones de ETOH 96° de 5 mL cada una y secar hasta peso constante en una estufa regulada a 105 ± 5 °C(P_f)Método II: pesar 2g del ungüento en un tubo de centrífuga de 10 mL con tapa, añadir 8 mL de agua desionizada caliente, calentar suavemente en baño de agua hasta fusión de los excipientes de la formulación , agitando a intervalos vigorosamente para favorecer la mezcla de los componentes, añadir 1g de parafina (previamente fundida), agitar a intervalos para homogenizar la mezcla que se mantiene en el baño de agua, añadir 4 mL de agua desionizada caliente y agitar. Centrifugar por 10 minutos a 3500 rpm, eliminar la fase superior compuesta por los componentes oleosos con ayuda de una espiral de alambre inerte, decantar sobrenadante. filtrar al vacío sobre filtros Goch previamente pesados(P_i), lavar los residuos con 3 fracciones de agua caliente de 10 mL cada una, Secar hasta peso constante en una estufa regulada a 105 ± 5 °C(P_f) .A ambos métodos se les realizaron los ensayos A (evaluación de la posible interferencia de los componentes de la fase interna) y B (especificidad frente a los componentes de la base).

Validación del método gravimétrico para control de calidad del ungüento QL: El **Método II** fue validado según los parámetros mínimos exigidos para la categoría I que incluye las técnicas destinadas a cuantificar principios activos en las formas terminadas que son: especificidad, linealidad del método exactitud, precisión (repetibilidad y precisión intermedia), rango.

Control de calidad de la formulación QL.: Se realizó el control químico y tecnológico al producto terminado.

RESULTADOS Y DISCUSION: El fundamento de estos métodos gravimétricos directos es eliminar las sustancias auxiliares solubilizándolas adecuadamente y separándolas posteriormente con ayuda de un medio mecánico, cuantificando la Quitina que resulta insoluble y por tanto se retiene en el filtro, la cuantificación se realiza por diferencia de peso. En el **Método I** se emplea una mezcla de solventes orgánicos para solubilizar a los componentes oleosos de la matriz, permitiendo la liberación de la Quitina de la base y su total precipitación. El resto de los pasos se incluyen para garantizar la eliminación de las posibles interferencias. Como se observa en la Tabla I, no existen interferencias de los componentes de la fase acuosa, donde se incluye al otro fármaco (Clorhidrato de Lidocaína), lo cual se evidencia por los porcentajes de Quitina obtenidos muy próximos al 100%, pero sin embargo se reflejó una considerable interferencia de la fase oleosa, por lo que decidimos abandonar este método en aras de lograr una adecuada calidad de los resultados analíticos. Estas interferencias son eliminadas con el Método II.

Tabla I: Resultados de los ensayos preliminares empleados en el diseño del Método I y II expresados en % de Quitina (Ensayo A) y de interferencias (Ensayo B)

Método	Ensayo A	Ensayo B
I	101.34	37.80
	101.09	38.20
	100.78	37.45
II	99.89	0.20
	100.12	0.22
	99.98	0.32

Se seleccionó el Método II por brindar mejores resultados en los ensayos preliminares, por ser un método específico y por ser la opción más barata. El estudio de la especificidad se complementó con espectroscopía IR tal como se plantea para las formulaciones con Quitina³obteniendo resultados satisfactorios. En la Tabla II se resumen los resultados de la validación del método II. Como se observa se cumplen los criterios de aceptación establecidos para cada parámetro. El método fue lineal entre 50-150% según se comprobó por el procesamiento estadístico aplicado a la curva de calibración. La exactitud fue buena, según resultados de la regresión lineal aplicada a la curva de recuperación, el recobrado medio obtenido, el bajo CV total. El cumplimiento del test de Cochran demuestra que el factor concentración no afecta la exactitud del método. De modo que podemos afirmar que no influyen significativamente los errores sistemáticos. También se cumplió la precisión para los niveles de concentración envaluados por un mismo analista, es decir, la repetibilidad. La precisión intermedia dio adecuados valores de CV y no se observaron diferencias significativas entre días y analistas según se demostró con el test de Fisher y Student. Por último se comprobó la calidad tecnológica del ungüento QL verificando sus propiedades organolépticas y el área de extensibilidad que coincide con los resultados de Méndez y col². Ambos principios activos están correctamente dosificados según los resultados obtenidos en la Tabla III. Para la cuantificación del Clorhidrato de Lidocaína se empleó el método diseñado y validado por Díaz y col⁴en el 2001.

Tabla II : Resultados de la validación del método II

Parámetro	Resultados	Criterios
Linealidad del método	$Y=0,97733x+1.2333$ $r=0,9994, r^2=0,9988,$ $n= 13 \rightarrow t_{exp}=1,2398, t_{tab}= 1.7700$ $b=0.9773 \rightarrow t = 104,2084 , p = 0,0000$ $CV_f = 1.22 \%$	$y = bx + a$ $r \geq 0,99, r^2 \geq 0,98$ $t_{exp} < t_{tab} : \text{No significativo}$ $b \approx 1, t \text{ alta}, p \leq 0,005, \text{ significativa.}$ $CV_f \leq 5\%$
Exactitud	$Y=0,9820x+1.2778$ $r=0,9996, r^2=0,9992,$ $n= 7 \rightarrow t_{exp}=1,1266, t_{tab}= 2.3050$ $b=0.9820 \rightarrow t = 93.52 , p = 0,0000$ $CV_f = 1.17 \%$ $R \text{ medio} = 99.62 \%, CV = 1.89\%$ $G_{tab}(p=0.05; k=3; m=3) = 0.8709$ $G_{exp} = 0.4687$	$y = bx + a$ $r \geq 0,99, r^2 \geq 0,98$ $t_{exp} < t_{tab} : \text{No significativo}$ $b \approx 1, t \text{ alta}, p \leq 0,005, \text{ significativa.}$ $CV_f \leq 5\%$ $R \text{ medio} = 97-103\%, CV \leq 3\%$ $G_{exp} < G_{tab}$
Repetibilidad	$CV_{50\%}=0.7\%$ $CV_{100\%}=1.3\%$ $CV_{150\%}=0.823\%$	$CV \leq 2\%$
Precisión intermedia	$CV_{total} = 0.93\%$	$CV_{total} \leq 3\%$
	Entre analistas Entre días $F_{exp} = 2.94$ $F_{exp}=0.95$ $F_{tab}=5.05$ $t_{exp} = 0.15$ $t_{exp} = 0.21$ $t_{tab}=2.23$ No hay diferencias significativas	$CV_{total} \leq 3\%$ $F_{exp} < F_{tab}$ $t_{exp} < t_{tab}$

Tabla III : Resultados del control de calidad del ungüento QL.

Muestra	Area de extensibilidad (mm ²)	Contenido de Quitina (%)	Contenido de Clorhidrato de Lidocaína (%)
1	1734.94	101.34	100.32
2	1537.81	101.50	100.32
3	1517.39	101.00	100.16
\bar{X}	1596.71	101.28	100.26
DS	120.41	0.25	0.09
CV(%)	7.50	0.25	0.09

Bibliografía:

1. Suárez Yania, García O., Méndez JF., Diseño y optimización de la formulación QL “Rev Cub Farm. Suplemento Especial, I Conferencia Interamericana de Farmacia y Nutrición , Vol 35 :83 – 86, 2001
2. Méndez J.F , Suárez Y ,García O, Bilbao O. Preformulación del ungüento rectal de Quitina.Tesis de Diploma . Instituto de Farmacia y Alimentos . Universidad de la Habana, junio, 2000
3. Suárez Y, Almirall I, González H.M, Bilbao O, Nieto O.M. “Metodología para estudios de estabilidad química en formulaciones de Quitina “. Revista Cubana de Farmacia Vol 34, No 1:12-19, 2000.
4. Díaz Danay A., Suárez Y ,García O .Diseño y validación del método de cuantificación de Clorhidrato de Lidocaína en el ungüento QL. Tesis de Diploma . Instituto de Farmacia y Alimentos . Universidad de la Habana, junio, 2001.

Estudio de estabilidad del Jabón de azufre.

Autores: DrC Mirta Castiñeira, MSc Mercedes Machua, MSc Clara Becker

Instituto de Farmacia y Alimentos, CENIC

Los jabones medicinales (1) son productos elaborados a partir de grasas naturales de primera calidad o a partir de virutas de jabón a la cual se le adicionan aditivos específicos (fármaco) para el tratamiento de afecciones de la piel. El jabón de azufre se usa como pediculicida y escabicida y contra el acné. Para este estudio se produjeron tres lotes de jabón y estos fueron colocados a temperatura ambiente dentro de cajas de cartón corrugado sin envoltura y envueltos en película plástica litografiada.

Se realizaron los siguientes ensayos al año y a los dos años: caracteres organolépticos, contenido de ácidos grasos totales e insaturados en base seca y base húmeda, contenido de humedad y materia volátil, contenido de alcalinidad libre cáustica y valoración del contenido de azufre. Los jabones resultaron estables por dos años no encontrándose gran diferencia entre los jabones envueltos y sin envoltura.

INTRODUCCION. Los jabones medicinales La preparación de estos jabones es análoga a la de los jabones de tocador(2) pero se le incorporan diferentes fármacos para estos tratamientos, La estabilidad de una forma farmacéutica es la propiedad que tiene esta para mantener las especificaciones señaladas y aceptadas en la monografía que aseguren sus características físicas, químicas, microbiológicas y biofarmacéuticas desde su preparación y durante todo el tiempo de vida útil el cual no es más que el período de tiempo durante el cual un medicamento, si se almacena correctamente cumple con las especificaciones establecidas para el y que se determina mediante el correspondiente estudio de estabilidad.(3).Este trabajo se realizó durante los años 1998, 1999 y 2000 y surge como parte del desarrollo que se ha venido llevando a cabo en la empresa Suchel Lis y la Facultad de Farmacia y Alimentos de la Universidad de la Habana, para la producción de jabones medicinales y tiene como objetivo realizar el estudio de estabilidad.. Estos jabones serán producidos masivamente para el uso de los pacientes con patologías cutáneas Para esto fue necesario desarrollar y validar el método de análisis a aplicar en el estudio y evaluar el control de calidad de los jabones recién preparados. Este jabón no aparece reportado en las Farmacopeas y normas oficiales.

MATERIALES Y MÉTODOS.Para realizar los estudios de estabilidad se prepararon tres lotes de jabón de azufre con las siguientes fechas de fabricación: **Lote 001 fabricado en Noviembre de 1998, Lote 002 en Noviembre de 1998, Lote 003 en Noviembre de 1998.** Estas pastillas fueron preparadas con materia prima de calidad farmacéutica siguiendo la tecnología de producción de jabones de tocador y se utilizó viruta para este uso producida en Mexico. Todas las materias primas fueron analizadas para controlar su calidad. Los análisis realizados son los siguientes: Una vez que concluye el proceso de fabricación del producto, se somete este a ensayos físico-químicos para verificar que cumple con las especificaciones de calidad establecidas por el fabricante que aparecen reportadas en la literatura que se presenta se verifican las siguientes características:

Tabla No 1. ENSAYOS DE CONTROL DE CALIDAD PARA EL PRODUCTO TERMINADO ESPECIFICACIONES DE CALIDAD.

Color, olor y apariencia	Olor característico y color amarillo
Humedad y materia volátil (4)	% Máximo 15.0
Contenido de AGT e I en base húmeda (5)	% Mínimo 74.0
Contenido de AGT e I en base seca (5)	% Mínimo 85.0
Alcali libre cáustico (6)	% Máximo 0.05
Contenido de Lindano (7)	e/ 90.0 y 110.0 %

Una vez desarrollado el control de calidad y comprobado que el jabón cumple con las especificaciones se procede a realizar el estudio de vida útil, ya que por ser el azufre un compuesto de bajo punto de fusión y además las sustancias auxiliares no deben ser sometidas a altas temperaturas se procede de la siguiente forma se guardan muestras de los jabones sin envoltura en bandejas de cartón producidas en la Empresa Compacto

Caribe debidamente rotuladas y también se guardan muestras de los jabones envueltos en películas plásticas litografiadas. Todos fueron colocados a temperatura ambiente en estantes frescos y ventilados por dos años. Para este estudio se procedió a analizar las muestras al año y a los dos años (12 y 24 meses) según la fecha de fabricación de cada lote con el fin de proponer dos años como fecha límite de vencimiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN. En trabajos anteriores se había demostrado, que la técnica analítica, en que se adiciona al jabón formaldehído y sulfito de sodio al 5% si se refluja hasta disolver completamente y se adiciona ácido acético al 30 % puede determinarse el contenido de azufre valorando con una solución de Yodo 0.1 Mol/L utilizando solución indicadora de almidón como indicador aplicando una reacción de oxidación-reducción (7). Esta técnica fue validada (7) específicamente para control de calidad demostrándose que el método de análisis es sencillo y rápido para ser utilizado en la Industria productora de jabones y que el mismo es lineal, preciso en cuanto a repetibilidad y reproducibilidad, exacto y específico también puede ser utilizado para estudios de estabilidad por lo que se puede proceder a estos estudios.

Previamente se realiza una estabilidad acelerada sometiendo el medicamento a temperaturas no mayor de 50° por 10 días, ya que si no podía ocurrir la volatilización del azufre, y se analizó el medicamento por la técnica señalada anteriormente semanalmente donde se pudo comprobar la estabilidad del producto en cuanto a las propiedades organolépticas y fisicoquímicas.

Posteriormente se procedió a los estudios de estabilidad y vida útil en las condiciones señaladas anteriormente. Los resultados del control de calidad de los jabones recién fabricados y los resultados del análisis de los jabones guardados en cajas sin envoltura y envueltos durante 2 años se muestran en las tablas II y III.

TABLA II. ESTUDIO DE VIDA UTIL DE LOS LOTES DE JABONES (Sin envoltura)

Lotes	Cont. de Humedad % máx.	Cont. de AGT e I Base húmeda % mín74.0	Cont. de AGT e I Base Seca % mín85.	Cont. de Alkali Total %máx0.05	Descrp.	Identif.	Valorac %
0.01 recién fabricado	6.2	85.0	90.62	0	Cumple	Cumple	99.4
0.01 al año de fabricado	6.4	84.2	90.70	0	Cumple	Cumple	101.82
0.02 recién fabricado	6.8	80.4	90.65	0	Cumple	Cumple	98.6
0.02 al año de fabricado	6.7	78.8	92.34	0	Cumple	Cumple	99.5
0.03 recién fabricado	7.1	81.6	91.70	0	Cumple	Cumple	97.9
0.03 al año de fabricado	6.9	82.6	93.30	0	Cumple	Cumple	98.9

Tabla II Estudio de vida útil a los dos años de producidos los lotes de jabones de azufre envueltos en el envase propuesto en el documento.

Lotes	Cont. de Humedad % máx. 15.0	Cont. de AGT e I Base húmeda % mín74.0	Cont. de AGT e I Base Seca %mín 85.	Cont. de Alkali Total %máx0.05	Descrp.	Identif.	Valorac %
0.01 al año de fabricado	6.4	84.2	90.70	0	Cumple	Cumple	100.85
0.02 al año de fabricado	6.7	79.8	91.34	0	Cumple	Cumple	99.6
0.03 al año de fabricado	7.0	81.6	92.30	0	Cumple	Cumple	99.8

CONCLUSIONES

1.-Como se puede observar de los datos anteriormente expuestos el jabón cumple con todas las especificaciones de Calidad establecidas por las normas Cubanas, por lo que puede establecerse 2 años como fecha de vencimiento. .

2.- El jabón puede ser dispensado sin envoltura en cajas de cartón corrugado o envueltos en en película plástica litografiada. (envoltura establecida por Empresa Suchel Lis

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Martin Cook Levallen, Farmacia Práctica de Remington XII p1336,1995.
- (2) Norma Empresa Industria ligera NEL.74-187-1980"Jabón de tocador, mezclado, Molido, troquelado y envasado" .Proceso de producción..1980.
- (3) Sbarbati de Nudelman, Estabilidad de medicamentos Universidad de Buenos Aires .Editorial Ateneo. 1975.
- (4) Norma Cubana NC 27-1083Agentes Activos de superficie. Jabones. .Determinación del olor, color y Apariencia..1983.
- (5) Norma cubana NC 27-08-82 " Agentes Activos de superficie. Jabones. Determinación del contenido de humedad y materia volátil. 1982.
- (5) Norma cubana. NC 27-07-82. Agentes activos de superficie. Jabones. Determinación de AGT e I.1982
- (6) Norma Cubana. NC 27-14-83. Agentes Activos de Superficie. Jabones. .Determinación de la Alcalinidad libre cáustica. 1983..
- (7) Castiñeira Diaz Mirta, Machua Mercedes. Desarrollo y validación de un método de análisis para el control de calidad del jabón de azufre. Revista Cubana de Farmacia.Vol 34 pag 252. 2000

Determinación de los niveles de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído en plasma.

Autores: Lic. Lourdes Olivera Ruano (MsC)¹, Dr. Carlos A. González Delgado (MsC)¹, Lic. Yoagne Trapero Quintana ², Lic. Armando Correa Fernández ¹

1 Centro Nacional de Toxicología

2 Centro de Biofísica Médica

Centro Nacional de Toxicología (CENATOX)

Hosp. "Dr. Carlos J. Finlay" Ave. 31 y 114

Marianao. Ciudad Habana AP 14020

Telefonos: 260 3252, 260 1230

Email: cenatox@infomed.sld.cu

Resumen:

Introducción: El 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído es un aldehído aromático, producto flavorante que se encuentra en alimentos, bebidas y tabacos. Este compuesto ha sido evaluado como un agente antisickling, al reaccionar covalentemente con la HbS (hemoglobina mutante). **Objetivos:** Desarrollar una técnica analítica por HPLC lo suficientemente sensible para la determinación de la vainillina en plasma y validar el método analítico desarrollado según los parámetros establecidos para estudios farmacocinéticos. **Materiales y Métodos:** Se utilizó un Cromatógrafo Líquido Shimadzu LC-6A a 230 nm, una columna analítica Merck ODS (4.6 mm i.d x 25 cm, 5 µm). La fase móvil consistió en una mezcla de Buffer fosfato 100 mm (pH = 5.5): Metanol (1: 1), a un flujo de 1 mL/min a una temperatura de 50 ° C. La preparación de la muestra se realizó por extracción líquido-líquido con acetonitrilo como solvente. **Resultados:** El método fue lineal en un rango de concentración de 0.5-20 µg/mL. La recuperación fue del 95 %. Se obtuvo una buena precisión con CV < 15 %. **Conclusiones:** El método es sensible, selectivo, exacto y preciso cumpliendo con los parámetros fundamentales de validación establecidos para los estudios de farmacocinética.

Introducción: El 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído (4H3MB) es un aldehído aromático, producto flavorante que se encuentra en alimentos, bebidas y tabacos. (1,2) La esencia de vainilla es muy utilizada en confitería, preparación de alimentos, bebidas y preparados galinicos como correctivo del sabor y olor. No ejerce actividad fisiológica apreciable en las pequeñas cantidades empleadas usualmente. (3) Este compuesto ha sido evaluado como un agente potencial para el tratamiento de la Sicklemia, debido a su actividad antisickling, al reaccionar covalentemente con la HbS (hemoglobina mutante) que es la causante de esta enfermedad. (4) En el presente trabajo nos proponemos el desarrollo y validación de una técnica analítica por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para la cuantificación de los niveles de este compuesto en plasma con una sensibilidad superior a la establecida en nuestro laboratorio.(5)

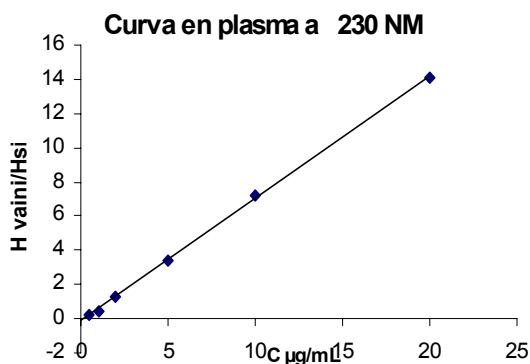
Materiales y Métodos:

Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico y las soluciones acuosas fueron preparadas con agua bidestilada. Los solventes empleados para la cromatografía fueron metanol y acetonitrilo grado HPLC (Riedel-de

Haën). En el procedimiento de extracción a 200 µL de plasma se le adicionan 200 µL de acetonitrilo (que contiene a la Difenilhidantoina como estándar interno). Mezclar en Vortex Mixer durante un minuto y centrifugar a 13 000 rpm por minuto. Inyectar 20 µL del sobrenadante en el Cromatógrafo. Se utilizó un Cromatógrafo Líquido Shimadzu LC-6A a 230 nm, una columna analítica Merck ODS (4.6 mm i.d x 25 cm, 5 µm). La fase móvil consistió en una mezcla de Buffer fosfato 100 mm (pH = 5.5): Metanol (1: 1), a un flujo de 1 mL/min. a una temperatura de 50 ° C. La cuantificación se realizó determinando la altura de los picos obtenidos en los cromatogramas correspondientes al analito y al estándar interno.

Resultados y Discusión:

Los parámetros evaluados para determinar la validez del método fueron: Linealidad, precisión, exactitud y sensibilidad. El rango de concentración estudiado fue 0.5-20 µg/mL. La curva de calibración fue lineal en todo el rango estudiado como se puede observar en la figura



El coeficiente de correlación de y el de determinación fue 0.9997 y 0.9994 respectivamente. El límite de cuantificación fue de 0.08 µg/mL.

La precisión intradía e interdía fue obtenida usando tres concentraciones diferentes (0.5; 5 y 20 µg/mL) por adición de 4H3MB a un blanco de plasma. Los coeficientes de variación (C.V) calculados fueron de 3.82 a 7.97 % para la precisión intradía y de 6.18 a 9.35 % para la precisión interdía. (Tabla I)

Tabla I. Precisión de la técnica HPLC. 4H3MB. (n=6)

Intradía		Interdía	
Concentración (media ± S.D) (µg/mL)	CV (%)	Concentración (media ± S.D) (µg/mL)	CV (%)
0.45 ± 0.03	7.97	0.45 ± 0.04	9.35
4.79 ± 0.23	4.93	5.00 ± 0.43	8.64
19.76 ± 0.75	3.82	19.73 ± 1.22	6.18

Para determinar la exactitud del método se calculó la recuperación a tres concentraciones del analito (baja, media y alta).(Tabla II)

Tabla II. Exactitud de la técnica HPLC. 4H3MB. (n=6)

Concentración 4H3MB Adicionada ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración 4H3MB media determinada ($\mu\text{g/mL}$)	Recobrado (%) (media \pm SD)
0.5	0.48	96.00 \pm 0.01
5	4.91	98.20 \pm 0.15
20	19.53	97.65 \pm 0.49

Como se observa se obtuvo un buen porcentaje de recuperación a las tres concentraciones estudiadas.

Conclusiones: Las condiciones cromatográficas propuestas para el trabajo en HPLC brindan resultados satisfactorios para cuantificar adecuadamente los niveles de 4H3MB de interés. El método resultó ser lineal, preciso, exacto y sensible para la determinación del analito. Como todos los parámetros están dentro de los criterios establecidos el método ha quedado validado y puede ser empleado en estudios de farmacocinética.

Referencias bibliográficas:

1. Organic Chemistry. Third Edition. Fieser and Fieser. Reinhold Publishing Corporation. Pp 676-695, 210. New York.
2. Feron V.J: et al: Aldehydes: Occurrence, carcinogenic potential, mechanism of action and risk assessment. Mutat. Res, 259, 363-385. 1991.
3. Enciclopedia de Tecnología Química. Kirk Othmer. UTEHA.1986.
4. Zaugg RM, Walder JA, Klotz IM: Schiff Base Adducts of Hemoglobin. J. Biol. Chem. Vol 252, No. 53, pp 8542-48. 1977.
5. Correa A, Olivera LM, González CA, Carrión D: Determinación del 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído en plasma por HPLC para Estudios Farmacocinéticos. Revista Cubana de Farmacia. Vol 34, Suplemento Especial Junio 2000, pp241-42.

**Validación y comportamiento del sistema de agua empleado en la producción de Anticuerpos
Monoclonales para uso farmacéutico.**

Tipo de actividad: **Poster**

Nombre completo del expositor* y autores: **María del Rosario Alemán*, Lamay Dorta, Manuel Montané, José A. García, Marcos González, Alejandro Beldarraín, Leonardo Gómez, Yordanka Quiñónez, Raiza Vázquez, Biunayki Reyes, Leoner A. Del Arco y Joel Alfonso.**

Institución o empresa de procedencia: **Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.**

Dirección postal: **P.O. Box 6162** Teléfono: **271-6022** Fax: **(53-7) 21-8070, 33-6008**

correo electrónico: maria.rosario@cigb.edu.cu <mailto:maria.rosario@cigb.edu.cu>

resumen

Este trabajo se basa en la validación y comportamiento del sistema de agua empleado en la producción de Anticuerpos Monoclonales (AcM) durante un año de trabajo, el cual se encuentra conformado por un sistema de columnas intercambiadoras de iones para la desionización del agua dura. Este sistema comprende tres lazos, abasteciendo dos de ellos a dos sistemas purificadores de agua (Milli-Q y Super-Q), los cuales deben entregar en los puntos de uso de estos sistemas un agua que cumpla con las especificaciones de agua purificada.

Para el estudio se muestrearon 9 puntos de uso: (4 de agua desionizada y 5 de agua purificada) durante 30 días consecutivos; se realizó la determinación de carbono orgánico total (COT) utilizando el equipo medidor de COT, chequeo de la microbiología según USP24. Todos los equipos empleados en el estudio fueron calibrados antes de iniciar el mismo.

Esta validación se realizó con el objetivo de verificar el funcionamiento del sistema de producción de agua para su utilización en el proceso de fabricación de un AcM empleado como inmunoligando para la purificación del antígeno de superficie recombinante del virus de la hepatitis B.

En todos los casos la calidad del agua obtenida cumplió con las especificaciones descritas para la producción del AcM durante la validación y un año de trabajo.

Teniendo en cuenta estos resultados, consideramos que es posible obtener agua purificada mediante la utilización de este sistema, aún cuando el diseño del mismo no fue considerado para este fin, evitando la compra de un destilador.

Estudio del tiempo de lavado de la placenta para la elaboración de melagenina loción

Expositor: José Raúl Pérez Mora.

Autores: Rossana. Fernández , Valia Vergel de la Osa, Maria A. Jiménez Gómez, Dulce. M. Pie.

Centro de Histoterapia Placentaria . Planta

Resumen

En la Industria Farmacéutica es de gran importancia el conocimiento de los límites de las propiedades químico - físico de los medicamentos. Las características organolépticas, densidad, pH, etc., juegan un papel fundamental en la calidad del producto final; las cuales dependen de las variables del proceso productivo como: temperatura, tiempo, presión etc.

En el Centro de Histoterapia Placentaria Planta (CHP) se elaboran medicamentos y dermocosméticos, utilizando extractos placentarios como sustancia activa. Para garantizar que los medicamentos obtenidos cumplan con los atributos de calidad, se crea el laboratorio de control de procesos el cual tiene como objetivo brindar a los técnicos de producción toda la información cuali - cuantitativa en procesos.

En este trabajo se ofrece el resultado del estudio realizado por el laboratorio de Control de Procesos del lavado de la placenta; después de realizar un estudio estadístico se determinaron los límites del tiempo de lavado de la placenta para la elaboración de Melagenina Loción, materia prima fundamental de la Melagenina Plus; reportándose como límite inferior $L_i = 157$ seg. y límite superior $L_s = 200$ seg. , se logra optimizar el proceso de lavado ahorrándose 6.4 M^3 de agua cruda por cada lote y se disminuye el tiempo del proceso en aproximadamente 28 min., estableciéndose la metodología a seguir para realizar el lavado de las placentas.

Introducción:

El Centro de Histoterapia Placentaria (CHP), es una institución cubana dedicada a la investigación básica, desarrollo y fabricación de productos a partir de la placenta humana de acuerdo a las regulaciones de las actuales prácticas de producción (GMP). La planta produce medicamentos y cosméticos para el mercado nacional e internacional. Entre los productos que fabrica esta la Melagenina Plus que es un medicamento para la cura del Vitiligo patología que afecta al 1 % de la población mundial.

Las propiedades de los medicamentos son un factor significativo a considerar en la industria Médico - Farmacéutica, especialmente en el tratamiento y cura de enfermedades así como también en el diseño de estudios clínicos y preclínico. Para lograr un producto con la calidad requerida se necesita establecer los límites de algunas variables del proceso durante las distintas etapas del proceso productivo. Para la realización de este trabajo se trazaron los siguientes objetivos

- Determinar los límites del tiempo de lavado de la placenta para la elaboración de Melagenina loción, materia prima fundamental de la Melagenina Plus.
- Determinar el efecto del tiempo de lavado en los parámetros físicos – químicos.
- Optimizar el proceso de lavado de la placenta.

Materiales y métodos.

Cesta de acero inoxidable, Agua cruda, Placenta humana, Registro de datos de descongelación, Cronometro, Tanque de acero inoxidable de 200 L, Barómetro.

Se utilizaron los datos de 49 lotes aprobados, fabricados en el año 1999 y 2000 ; con esta data de 49 valores se determinó utilizando el análisis estadístico de Microsoft Excel, los siguientes parámetro:

\bar{X}_p : promedio de la variable medida y S: Desviación estándar

Para el cálculo de los Límites se utilizó la siguiente expresión: $L(i)s = \bar{X}_p \pm KS$

Donde: L_i : Límite inferior , L_s : Límite superior, K: 1.5, coeficiente estadístico, $L_i = \bar{X}_p - KS$, $L_s = \bar{X}_p + KS$

Resultados y discusión

En este tópico se expondrán los resultados del tiempo de lavado obtenido de la producción realizada de 25 lotes de al año 1999 y 24 lotes del año 2000

A los resultados obtenidos se le realiza el análisis estadístico, el cual incluye 3 estadígrafos:

1. Media $\bar{x} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n}$; donde x se refiere a la propiedad medida

2. Desviación estándar $S = \sqrt{S^2}$

3. Coeficiente de variación % $C = \left(\frac{S}{\bar{x}} \right) * 100$

El Coeficiente de variación % C es un estadígrafo que brinda el porciento de dispersión de los datos, el cual mientras más pequeño sea menor será la dispersión.

Determinación de los limites para el tiempo de lavado de la Melagenina loción.

En la tabla No. 1 se reporta el tiempo de lavado promedio para el año 1999, cuyo valor es de 171 seg., el limite inferior $L_i = 143$ seg. (2,23 min., seg.) y el limite superior $L_s = 200$ (3.20 min., seg).

Tabla No 1. Tiempos de lavado promedio año 1999

Tiempo Promedio de lavado (seg.)	171
Desviación estándar Promedio (seg.)	19
Coeficiente de variación (%)	11
Limite inferior (seg)	143
Limite superior (seg)	200

En la tabla No. 2 se reporta el tiempo de lavado promedio para el año 2000, cuyo valor es de 185 seg. , ligeramente superior al año 1999, el limite inferiores $L_i = 171$ seg. (2,37 min., seg.) y el límite superior $L_s = 199$ seg. (3.19 min., seg).

Tabla No 2. Tiempos de lavado promedio año 2000.

Tiempo Promedio de lavado (seg.)	185
Desviación estándar Promedio (seg.)	9
Coeficiente de variación (%)	5
Limite inferior (seg)	171
Limite superior (seg)	199

Se observa que en las tablas 1 y 2 que los valores del tiempo de lavado para cada año no se alejan apreciablemente entre si, para un coeficiente de variación de 11 y 5 % , respectivamente.

En la tabla No, 3 se muestra el resultado estadístico realizado a los tiempos de lavado histórico de la Melagenina Loción. Los valores obtenidos ofrecen un buen nivel de confiabilidad debido a que existe poca dispersión de los datos, no existen diferencias significativas de cada lote entre si para un tiempo promedio de lavado de 178 seg. y un coeficiente de dispersión de 7,98 .%

Además aparece reportado el límite inferior $Li = 157 \text{ seg}$ (2,37 min., seg.) y el límite superior $Ls = 200 \text{ seg.}$ (3,20 min., seg.); Los cuales se establecen como los límites para el tiempo de lavado de la Melagenina loción; lográndose de esta forma estabilizar los parámetros químico físicos del producto final y reducir a cero los rechazos de lotes.

Tabla No.3 Tiempo de lavado histórico de la Melagenina Loción

Tiempo Promedio Histórico de lavado (seg.)	178
Desv. estándar Histórica Promedio (seg.)	14
Coefficiente de variación	7.92
Limite inferior (seg)	157
Limite superior (seg)	200
Limite inferior (min. seg)	2.37
Limite superior (min .seg)	3.20

Influencia del tiempo de lavado en las características químico físicas de la Melagenina loción.

Al realizar un análisis de la influencia del tiempo de lavado en las características químicos- físicas del producto final se pudo demostrar que las misma varían con el tiempo de lavado. En estudio estadístico realizado a los lotes de Melagenina loción elaborados en los años 1999 y 2000 del parámetro físico – químico nitrógeno (cuantitativo)se pudo comprobar que el nitrógeno presente en el producto final en el año 2000 disminuyo en un 13,9 % respecto al nitrógeno del año 1999; es decir de 11.73 g /mL a 10,10 g / mL, lo cual de debe al resultado de aumentar los tiempos de lavado de la Melagenina Loción del año 2000; Comprobándose que el nitrógeno disminuye con el aumento del tiempo de lavado.

Optimización del proceso de lavado

El proceso de lavado se emplea agua cruda con una presión a 2 bar, con un flujo de 2 L / seg. , al analizar el consumo agua, antes de realizar el estudio se obtuvo que., que el tiempo promedio de lavado era aproximadamente 4970 seg. para un consumo de agua cruda de 9,9 M³ / lote, donde el proceso de lavado duraba aproximadamente 1 hora con 48 min. Después de establecer los límites se determino que el tiempo promedio de lavado era aproximadamente de 1780 seg., lo cual arrojo un consumo de agua de 3,5 M³/ lote. Demostrándose así que el tiempo total del proceso de lavado disminuye en 28 min.,y el consumo se agua en 6,4 M³ / lote.

Como resultado de este trabajo se llega a las siguientes conclusiones.

1. Se determinaron los límites del tiempo de lavado de la placenta para la elaboración de Melagenina loción; límite inferior igual a 157 seg. (2, min. , 37 seg.) y límite superior igual a 200 seg. (3 min. , 20 seg.)
2. Se logro optimizar el proceso de lavado de la placenta ahorrándose 6.4 M³ de agua por cada lote y se disminuye el tiempo del proceso de lavado aproximadamente en 28 min.
3. Se demostró que los parámetros cuantitativos disminuyen con el aumento del tiempo de lavado.
4. Se establece la metodología a seguir para realizar el proceso de lavado de la placenta.

Bibliografía:

1. Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos. Serie de Informes Técnicos 822 y 823, 42° informe. Ginebra .1992
2. Guía 823. Prácticas de adecuada manufactura. OMS 1992.
3. Notas y registros de trabajos del Laboratorio de Control de Procesos.
4. Buenas Practicas de Fabricación. Regulación 16 – 2000. CECEMED. Cuba.ICH Good Manufacturing practice Guide for Active Pharmaceutical Ingredients. Marzo 2000.

Levantamiento y Evaluación de riesgos de accidentes y enfermedades en el Centro de Histoterapia Placentaria. Planta.

Autores: Ivón Betancourt Cabrera, Rebeca Zuaznabar, Eladia Ramírez.

Centro de Histoterapia Placentaria. Teléfono: 202.0933 planta@infomed.sld.cu

Resumen:

Los grandes siniestros ocurridos en los últimos años han llevado, tanto a las industrias como a las autoridades a plantearse la forma de evitar la repetición de éstos sucesos. Actualmente para afrontar los llamados Riesgos Mayores (incendios, explosiones, fugas de productos peligrosos, etc.) se están implantando, en las industrias con elevada peligrosidad, procedimientos de análisis de riesgos de los procesos, desde el proyecto de la planta, modificaciones o ampliaciones, así como su funcionamiento y hasta para su demolición.(1)

El CHP. Planta, es un centro de productos biológicos al tratarse las placentas humanas recolectadas en los hospitales Ginecobstétricos de todo el país.

Teniendo en cuenta la coincidencia de los riesgos químicos, biológicos, físicos, en nuestra Planta, se efectuó el levantamiento y evaluación de los riesgos con el objetivo de conocer a cuáles se exponen nuestros trabajadores y en qué orden de prioridad hay que solucionarlos. Como guía metodológica se utilizó la resolución 23/97 del Ministro de Trabajo y Seguridad Social y se desarrollaron los siguientes aspectos:

- ❖ Se determinó quiénes participarían en la identificación de los riesgos en cada área de trabajo, definiéndose los sistemas objetos de evaluación, se determinaron los riesgos en cada sistema, los factores causales de cada riesgo según método Pickers, confeccionándose el plan de medidas.

La importancia de éste trabajo está en que al concluir el inventario de riesgos la Dirección del Centro pudo conocer la magnitud de los mismos y actuar sistemáticamente en consecuencia para una minimización o erradicación de los riesgos de accidentes y enfermedades.

Introducción:

La obligación a los directivos, jefes de las entidades, administradores y funcionarios de garantizar condiciones seguras e higiénicas de trabajo les conlleva a adoptar medidas necesarias en materia de prevención y protección, tendientes a eliminar los riesgos que afectan la salud y la seguridad de los trabajadores. (2)

Acorde con la resolución 23/97 del ministerio de trabajo y seguridad social, la identificación, evaluación y gestión de la prevención de los riesgos se realiza por un grupo designado al efecto, teniendo las funciones de elaborar un programa de trabajo para la organización y seguimiento del proceso de identificación, evaluación, control de los riesgos y examen de las medidas de prevención y protección, propondrá el plan de medidas para su aprobación, a partir del criterio costo-beneficio para la prevención de los riesgos detectados, informará el resultado de la evaluación a todos los trabajadores, y modificará las actividades preventivas, referidas en el capítulo tercero inciso d) de dicha resolución, como consecuencia del resultado de los controles periódicos siempre y cuando estos indiquen que no se garantiza la seguridad y salud requeridas.

En la revisión de los resultados de inspecciones realizadas a 817 Centros en el año 1995 se observa que se detectaron 6 829 infracciones nuevas, rechequeándose 2824. (3) Lo anterior, demuestra falta de conocimientos de los riesgos y carencia de medios técnicos y humanos para el desempeño de la labor preventiva.

Se asume por conveniencia que en el Centro se identifiquen, evalúen y gestionen la prevención de los riesgos que afectan la seguridad y salud de los trabajadores y es la motivación de la realización de éste trabajo.

Materiales y Métodos:

Método de R. Pickers.

$R = P * E * C$ donde: R- Grado de Riesgo (magnitud)

P- Probabilidad del accidente

E- Exposición (factor temporal que aumenta o disminuye la magnitud del riesgo).

Las estadísticas existentes, la experiencia y el conocimiento nos permiten valorar cada magnitud según las tablas que exponemos a continuación:

Probabilidad		Exposición	
Ocurre frecuentemente.....	10	Continua.....	10
Muy posible.....	6	Frecuente (diaria).....	6
Poco usual.....	3	Ocasional.....	3
Ocurrencia rara.....	1	Poco usual (mensual).....	1.5
Virtualmente posible.....	0.5	Raro.....	1
		Muy raro (anual).....	0.5
		Ninguna.....	0

Consecuencias posible (en dólares la cifra)

Catástrofe	100	Muchas muertes y heridos graves o daños mayores a 10 millones
Desastre	40	Algunas muertes y heridos graves o daños mayores a 1 millón
Muy serias	20	Alguna muerte y heridos graves o daños mayores a 100000
Seria	7	Heridos o daños mayores de 10000
Importante	3	Incapacidad y/o daños mayores de 1000
Notable	1	Lesión sin importancia o daños mayores de 100

Al evaluar el riesgo se sustituyó en la fórmula los valores que según las tablas se aproximan a la realidad del evento y de acuerdo con la cifra obtenida se clasificó el riesgo y proponemos la medida que debemos aplicar con el mismo, según los siguiente:

Magnitud del Riesgo (R)	Riesgo	Actuación
Mayor que 400	muy alto	Paralización de la operación
De 200 a 400	alto	Corrección inmediata
De 70 a 200	importante	Previa corrección
De 20 a 70	posible	Mantener alerta
Mayor que 20	aceptable	Controlar

Discusión de Resultados:

La identificación, evaluación y prevención de los riesgos se realizó en cada área de trabajo por un grupo conformado por el especialista principal, el técnico en PHT (protección e higiene del trabajo), un trabajador, la doctora que labora en la entidad y un miembro de la sección sindical. Éste grupo elaboró el programa de trabajo para su área y le dió seguimiento a éste proceso. Propuso el plan de medidas para su aprobación a partir del criterio costo- beneficio. En reunión efectuada en su colectivo de trabajo informó el resultado de la evaluación. Y como seguimiento las actividades preventivas han sido objeto de revisión y actualización.

La identificación de los riesgos que afectan la seguridad y salud de los trabajadores consistió en un análisis de todos los aspectos de la actividad en cada puesto de trabajo para detectar las situaciones que pueden originar daños. Se observaron la seguridad de la instalación, higiene de los locales, presencia de humo, gases, nivel de temperatura, iluminación, ruidos y otros. Se determinaron qué tareas se realizan en cada área. Se estudiaron los procedimientos normalizados mientras se efectuaba el trabajo para ver si se cumple la forma establecida y si implica riesgos. Además se tuvieron en cuenta otros enfoques. Se emplearon técnicas de análisis cualitativo, contestándose la pregunta ¿qué puede ocurrir? Refiriéndose a las circunstancias que pueden dar origen a efectos adversos. El método cuantitativo para determinar la magnitud del riesgo se realizó a partir de lo establecido por William Fine; R. Pickers y el Instituto Sueco para el Desarrollo de la Producción y el Medio Ambiente. El resultado de la identificación y evaluación de los riesgos que afectan la salud y seguridad se registró en la Tabla No.1, como ejemplo del trabajo.

Este trabajo permitió concluir que durante las nuevas inversiones y cambios tecnológicos se tendrá en cuenta los planes de prevención y la actualización de los riesgos se realizará con una frecuencia bianual.

Bibliografía:

1. Bestraten Bellovi M. El análisis del riesgo químico a partir del real decreto 866/88 sobre prevención de accidentes mayores. Rev. Mapfre Seguridad. Madrid 89.
2. Ley No. 13 de Protección e Higiene del Trabajo, 28 de diciembre de 1977, artículo no.29.
3. Antecedentes a la Resolución No. 23/97, Ministro del Trabajo y Seguridad Social.

Tabla No.1: Listado de riesgo.

SUB-DIRECCION DE MANTENIMIENTO

Sistema	Parte del Sistema	Riesgo	Factores de Riesgo	Medidas Preventivas	Consecuencia	Magnitud riesgo	Cant. Trab.	Orden de Prioridad
CALDERA								
Caldera	Piso de la caldera	Caída al mismo nivel	Técnico- organiz. no se Previo la fabricación De la rejilla	Fabricar rejilla Piso frente a la Caldera.	Lesión que afecta Al trabajador Por enfermedad	Precisa Corrección	2	2
Area exterior	Canal de agua	Caída al mismo nivel	Idem al anterior	Idem al anterior	Idem al anterior	Idem al anterior	3	1
Local	Reglas de Protección e Higiene Del Trabajo	Accidente por desconocimiento	Humano falta de gestión del Jefe	Gestionar o confeccionar las Reglas Esp.	Accidente por desconocimiento	Idem al anterior	1	1
TALLER								
Piedra Esmeril	Protector de la Piedra	Proyección de fragmento o partículas	Técnico no se previo la protección A la hora de montar la piedra	Fabricar protector a la piedra de esmeril	Lesión al trabajador con daño a la vista o cara	Precisa corrección	1	1

PLAN MAESTRO DE VALIDACION DEL CENTRO DE HISTOTERAPIA PLACENTARIA

Autores: Valia Vergel De La Osa *, Luis Ricardo Serrano Doce **, Alejandro Beldarrain Iznaga **

*Centro de Histoterapia Placentaria

**CIGB

RESUMEN

El Centro de Histoterapia Placentaria, es una institución dedicada a la elaboración de medicamentos de origen biológico utilizando extractos de origen placentario.

Debido a las exigencias regulatorias imperantes en la industria biofarmacéutica contemporánea, la fabricación de fármacos para uso humano ha de estar respaldada por un sistema documental que demuestre fehacientemente que el producto cumple con los parámetros de calidad establecidos, siendo la validación un punto clave en la consecución final. Esto nos obliga al desarrollo de una estrategia para la organización del trabajo de validación en el CHP mediante un Plan Maestro de Validación. Definiéndose su alcance, responsabilidades, organización y los recursos necesarios para su ejecución, acorde a las condiciones actuales que rigen la industria farmacéutica cubana, así como su aplicación y desarrollo, como parte del proceso de licitación a las autoridades nacionales de los productos que se facturan en dicha instalación.

INTRODUCCIÓN

Como planta productora de ingredientes activos, el Centro de Histoterapia Placentaria es rigurosamente controlado por la autoridad regulatoria nacional, (CECMED) mediante inspecciones a las instalaciones productivas para determinar el grado o nivel de cumplimiento de las Buenas Prácticas de Producción (BPP).

Estas abarcan aspectos tan importantes y disímiles como: el control del personal, materia prima y materiales; higiene y bioseguridad en las instalaciones productivas, el equipamiento instalado y la estructuración de un plan para su validación.

Por lo tanto, los objetivos que se persiguen con este trabajo son:

- Elaboración de un Plan Maestro de Validación (PMV) que servirá de guía para la implementación del Programa de Validación en el CHP.
- Definición del alcance del PMV.
- Identificación de los equipos, sistemas y técnicas analíticas que serán objetos de la validación.
- Identificación de cada uno de los programas que soportan el trabajo de validación de acuerdo a las necesidades específicas de los procesos productivos.
- Definición de la estructura organizativa de documentación y de personal para el desarrollo del trabajo de validación.

DESARROLLO Y RESULTADOS

El Plan Maestro de Validación de Histoterapia Placentaria como documento rector de la validación requirió del desarrollo de las siguientes secciones:

1. Introducción.

1.1 Objetivos de la Validación.

1.2 Organización y Responsabilidades.

2. Terminología.

3. Áreas de proceso.

3.1 Descripción de los procesos.

3.1.1 Proceso de obtención Melagenina loción.

3.1.2 Proceso de obtención de Melagenina Plus.

- 3.1.3 Proceso de obtención del EP-100.
- 3.1.4 Proceso de obtención de Coriodermina.
- 4. Descripción de las facilidades.
- 5. Descripción de los sistemas auxiliares críticos.
 - 5.1 Agua purificada.
 - 5.2 Aire comprimido.
 - 5.3 Sistema de tratamiento de residuales.
- 6. Descripción del equipamiento de proceso.
- 7. Estrategia de validación.
 - 7.1 Sistemas y equipos de proceso.
 - 7.2 Sistemas auxiliares críticos.
 - 7.3 Instrumentos, registradores y otros equipos.
 - 7.4 Técnicas analíticas.
 - 7.5 Higienización de procesos.
 - 7.6 Agentes de higienizantes.
 - 7.7 Criterios para la Selección de los Agentes Higienizantes.
 - 7.8 Criterios de aceptación para el procedimiento de higienización.
 - 7.9 Validación del Proceso de Producción.
 - 7.10 Procesos.
 - 7.10.1 Procesos de extracción.
 - 7.10.2 Procesos de mezclado.
 - 7.10.3 Proceso de llenado.
 - 7.10.4 Caracterización del Proceso de Producción.
- 8. Criterios de aceptación.
- 9. Revalidación y control de cambio.
- 10. Programa de apoyo a la validación.
- 11. Referencias.
- 12. Anexos.

CONCLUSIONES

- 1- Se realizó un análisis de todos los aspectos que incluyen la validación .
- 2- Se elaboro el Plan Maestro de Validación de Centro de Histoterapia Placentaria.
- 3- El Plan Maestro de Validación del Centro de Histoterapia Placentaria ha sido aprobado por la dirección de calidad y de producción de nuestra empresa. Conformando parte del expediente de producción presentado al Centro Estatal de Control de Medicamentos para el otorgamiento de la licencia de producción No. 2000-006.
- 4- A partir de la aprobación de este documento se han comenzado a organizar los grupos de trabajo para la confección y ejecución de los protocolos de validación de los diferentes equipos, sistemas y técnicas analíticas y toda la documentación necesaria que son definidos en este plan.
- 5- La implementación del PMV en nuestro centro ha servido para detectar toda una serie de deficiencias en las diferentes áreas de la planta; tomándose medidas técnico-administrativa y la ejecución de una tarea técnica y posteriormente la realización de inversiones para el mejoramiento del equipamiento, las áreas de producción y control.

6- Se creo una estructura organizativa que asegure la implementación de la validación, proponiéndose la siguiente estructura:

- Comité de Expertos, integrado por 5 miembros
- Comisión de Validación, integrado por 5 miembros
- Subcomisiones de trabajo:
 - a. Subcomisión de Validación de Sistemas auxiliares
 - b. Subcomisión de Validación Sistemas y equipos
 - c. Subcomisión de Validación de Técnicas analíticas
 - d. Subcomisión de Validación del Proceso de Producción.

El Plan sirve en el Centro de Histoterapia Placentaria como guía organizativa para el trabajo de validación es un plan detallado, programado y diseñado para hacer uso de todas las fuentes disponibles y personal requerido para complementar las actividades de validación requeridas en paralelo con las actividades de diseño, especificaciones, compra, instrumentación y calificación.

Este documento es confidencial, se distribuyeron copias para su distribución y revisión las mismas fueron recogidas y destruidas por el Departamento de Calidad quedando solamente la versión aprobada por la Comisión de Expertos y de Validación y se mantiene como un documento estrictamente interno de la empresa.

BIBLIOGRAFIA

1. De Sain C., Documentation Basics The Support Good Manufacturing Practices. Advanstar Communications, OH,1993
2. Lanense J., A Model Standard Operating Procedure for Validation, The Documentation Department. Vol. 1, Number 4, Journal of Validation Technology, August 1995, pp 60-77
3. Sharp J., Validation- How Much is Required?. PDA Journal of Pharmaceutical Science and technology, May-June, 1995, pp 11-118
4. Anon. Code of the Federal Regulation Chapter 21, Part 211. Current Good Manufacturing Practices for Finished Pharmaceuticals pp 77-78 1990.
5. Levchuh J.W., Good Validation Practices; FDA Issues. Vol. 48, No. 5, PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, Sept-Oct. 1994, pp 221-223
6. Carol De Sain. "Equipment and utility system validation on protocols" Biopharm 5 (4). 21- 23. 1992.
7. David W. Maynard. "Validation Master Planing". J. Parent. Sci. Technol.; 47 (2): 84-88.1992
8. Carol De Sain." Process Validation Protocols". Documentation basics, new series for Carol De Sain early in 1993
9. Willing, S.H. and J-R. Stoker. "Good Manufacturing. Practices for Pharmaceuticals", 3erd. Edn,p.53. Marcel Dekker, New York.1992
10. OMS, "A Who guide to good manufacturing practice (GMP) requirements". Part 2: Validation.1997
11. Odum J. "Fundamental Guidelines for Biotech Multiuse facilities". Pharmaceutical Engineering. September/October 1995
12. 1,2,3,4,6,8,10. Pharmaceutical Manufacture's Association, 2PMA white paper on Multi-use Manufacturing Facilities for Biologics", January 1992
13. FDA "Guideline for the Inspection of Biotechnology Manufacturing Facilities", Division of Field Investigations (HFC-130), FDA, November 1991
14. Cleaning Validation Guide, FDA Mid Atlantic Region Inspection Guide, July 1992
15. OMS "Good Manufacturing Practices for pharmaceutical products" s/ed., Feb 1992
16. Who Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations Good Manufacturing Practices for Pharmaceutical Products. Technical Report Series No. 823 Annex 1, WHO Geneva, 1992
17. Robert Baird and Phil De Saints. "Validation of Biopharmaceutical Facilities". Bioprocess Engineering.1990
18. CIGB. División de Evaluación de procesos y sistemas. Planta de producción. "Estrategias para implantación de áreas multiuso en el CIGB". XII Forum de Ciencia y Técnica del CIGB.
19. Agalocco, J., "Points to Consider" in the validation of Equipment Cleaning Procedures, Volume 46, No. 5, PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, Sep/Oct 1992, pp163-168
20. WHO Expert Committee on Biological Standardization, Good Manufacturing Practices for biological Products. Technical Report Series No. 822 Annex 1, WHO Geneva, 1992
21. Tsang. C., "The Modeling process and model validation". Ground Water, 29 (1991) 825-31