

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---

---

---

---

---

---

Firma del presidente del jurado

---

Firma del jurado

---

Firma del jurado

**VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA DE VALORACIÓN  
MICROBIOLÓGICA EMPLEADA EN LABORATORIO AQM PARA CUANTIFICAR  
NEOMICINA Y NISTATINA EN MATERIA PRIMA.**

**JOSÉ IVÁN ARZUAGA CALDERÓN**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA  
VALLEDUPAR – CESAR**

**2023**

**VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA DE VALORACIÓN  
MICROBIOLÓGICA EMPLEADA EN LABORATORIO AQM PARA CUANTIFICAR  
NEOMICINA Y NISTATINA EN MATERIA PRIMA.**

**JOSÉ IVÁN ARZUAGA CALDERÓN**

**Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos  
para optar por el título de microbiólogo**

**DIRECTOR (A)**

**XIMENA RODRÍGUEZ PUERTA**

**Bacterióloga. MgSc en administración de hospitales, Esp. En epidemiología, Esp.  
En sistemas de calidad y auditoria en salud**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR**

**FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS**

**PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA**

**VALLEDUPAR – CESAR**

**2023**

## **Agradecimientos**

En especial quiero darle las gracias a Dios por el don de la vida, por haberme dado la fortaleza para seguir adelante en aquellos momentos de debilidad, sin Él nada de esto habría sido posible, es mi luz y mi camino.

A mis padres Donald Arzuaga y Jarlin calderón, ustedes han sido siempre el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, quienes estuvieron siempre a mi lado en los días y noches más difíciles durante mis horas de estudio, siempre han sido mis mejores guías de vida. Hoy cuando concluyo mis estudios, agradezco a ustedes este logro amado padres, como una meta más conquistada.

A mi tutora Ximena Rodríguez Puerta, sin usted y sus virtudes, su paciencia y constancia este trabajo no lo hubiese logrado tan fácil. Sus consejos fueron siempre útiles cuando no salían de mi pensamiento las ideas para escribir lo que hoy he logrado. Usted formó parte importante de esta historia con sus aportes profesionales que la caracterizan. Muchas gracias por sus múltiples palabras de aliento, cuando más las necesite; por estar allí cuando mis horas de trabajo se hacían confusas. Gracias por sus orientaciones.

A laboratorios A.Q.M S.A.S. en especial a la Dr. Nubia Hernández, a la jefe de validaciones Paula Góngora y por último, pero no menos importante, a la coordinadora de microbiología Andrea García por haberme compartido sus conocimientos a lo largo de mi formación profesional, así como también debo agradecer su amabilidad y disponibilidad durante mis estancias en su grupo, durante las cuales tuve todo el soporte profesional y logístico para alcanzar los objetivos perseguidos. Muchas gracias por permitirme vivir una experiencia tan importante para mi formación profesional.

Agradecerles a todos mis compañeros los cuales muchos de ellos se han convertido en mis más grandes amigos. Gracias por las horas compartidas, los trabajos realizados en conjunto y las historias vividas.

Gracias por ser quienes son y por creer en mí.

## **Dedicatorias**

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando a punto de caer he estado; por ello, con toda la humildad que mi corazón puede emanar, dedico primeramente mi trabajo Dios.

De igual forma, dedico esta tesis a mis padres que han sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles.

A mis hermanos que siempre han estado junto a mí brindándome todo su apoyo, muchas veces poniéndose en papel de padres y brindándome valentía para afrontar todas las adversidades.

A mis sobrinos Juan Camilo Arzuaga, Zamara Arzuaga e Ivana Arzuaga, ellos quienes en gran parte son el motor principal de mi vida.

A mi abuelo Juan Raúl Arzuaga (Q.E.D) espero que en la eternidad te sientas orgulloso de mí.

José Iván Arzuaga C.

## Tabla de contenido

Resumen .....	1
Abstract .....	3
Introducción.....	5
1 El problema en estudio.....	7
1.2. Planteamiento del problema.....	7
2 Justificación.....	9
3 Propósito .....	10
4 Objetivos .....	11
4.1. Objetivo general .....	11
4.2. Objetivos específicos.....	11
5 Marco teórico.....	12
5.1. Antecedentes y/ estado del arte:.....	12
6 Bases teóricas.....	14
6.1. Importancia de los antibióticos en la industria farmacéutica.....	14
6.2. Valoración de antibióticos.....	15
6.4. Validación método microbiológicos .....	17
7 Parámetros a evaluar en una prueba .....	18
7.1. Exactitud:.....	18
7.2. Precisión:.....	19
7.3. Especificidad: .....	19

7.4.	Límite de detección: .....	19
7.5.	Límite de cuantificación: .....	19
7.6.	Linealidad:.....	20
8	Metodología.....	20
8.1.1	Resistencia microbiana.....	20
8.2.	Protocolo de validación .....	21
8.2.1.	<i>Preparación del buffer PH 8</i> .....	21
8.2.2.	<i>Preparación del buffer pH 6 al 10 %</i> .....	21
8.2.3.	<i>Preparación del estándar</i> .....	21
9.	Determinación de los parámetros de validación.....	24
9.1.	Selectividad (especificidad):.....	24
9.2.	Precisión del sistema:.....	24
9.3.	Precisión del método (repetitividad): .....	25
9.4.	Precisión intermedia (Reproducibilidad): .....	25
9.5.	Exactitud:.....	25
9.6.	Linealidad:.....	27
10.	Resultados y discusión.....	27
10.1.	Especificidad.....	27
10.2	Selectividad.....	28
10.3	Linealidad y exactitud.....	30



<i>Datos de linealidad y exactitud</i> .....	30
10.5. Linealidad del método .....	31
10.6. Precisión del método.....	33
10.7. Precisión del sistema .....	34
10.8. Precisión intermedia.....	34
10.9. Límite de detección .....	36
10.10. Límite de cuantificación .....	37
11. Análisis de resultados.....	38
12. Conclusiones .....	41
13. Recomendaciones .....	42
14. Referencias.....	43
15. Anexos.....	48

## Índice de tablas

Tabla 1. Datos de la especificidad.....	28
Tabla 2. Datos de la degradación para neomicina .....	29
Tabla 3. Datos de la degradación para nistatina.....	30
Tabla 4. Datos de linealidad y exactitud.....	31
Tabla 5. Datos obtenidos de la linealidad del sistema.....	31
Tabla 6. Resultados de las pruebas estadísticas para la linealidad del sistema ...	32
Tabla 7. Datos obtenidos de la linealidad del método .....	32
Tabla 8. Resultados de las pruebas estadísticas para la linealidad del método de neomicina .....	33
Tabla 9. Resultados de las pruebas estadísticas para la linealidad del método de nistatina .....	33
Tabla 10. Datos de la precisión del método.....	24
Tabla 11. Datos del estándar para la precisión del sistema .....	34
Tabla 12. Datos y resultados de las muestras para precisión intermedia: Analista 1 y 2 Día 1.....	35
Tabla 13. Datos y resultados de las muestras para precisión intermedia: Analista 1 y 2 Día 2.....	36
Tabla 14. Datos y lecturas del límite de detección .....	37
Tabla 15. Datos y resultados del límite de cuantificación .....	37

## Resumen

La industria farmacéutica es un pilar para el desarrollo de la sociedad, la salud pública y para la medicina ya que esta avanza con mayor impacto en el mundo, gracias a sus avances de investigación en el descubrimiento, desarrollo y elaboración de productos que intervienen en la salud humana y animal.

La industria farmacéutica permite la producción de medicamentos esenciales para la salud y bienestar de una población como los antibióticos, los cuales, son utilizados cuando existe una enfermedad bacteriana, estos actúan inhibiendo la síntesis de proteínas en las células bacterianas sensibles, por ende, el uso inadecuado, un mal almacenamiento o un error en la producción puede acarrear una resistencia del antibiótico dentro del organismo lo que quiere decir que no producirá el efecto deseado dentro del cuerpo. Lo anterior, abre una brecha que conlleva al estudio y análisis del correcto uso, almacenamiento y producción de los antibióticos.

El presente trabajo validó la metodología analítica de valoración microbiológica empleada en el laboratorio de la empresa AQM para cuantificar Neomicina y Nistatina en materia prima utilizando como metodología los lineamientos estipulados por la United States Pharmacopeia (USP) sobre el protocolo y determinación de los parámetros de validación.

De acuerdo con los resultados del presente estudio, la precisión del sistema en la Neomicina y Nistatina presenta una desviación estándar relativa del 2 %, la cual, es inferior al límite establecido de 10 %, dando a conocer una evidente variación, sin embargo, ante la USP, quien es el ente encargado de establecer los parámetros de validación, ambos porcentajes cumplen a cabalidad su objetivo. Adicionalmente, se hizo

una comparación entre dos analistas permitiendo aumentar la veracidad y seguridad de los resultados ya que ambos desarrollaron el método bajo las mismas condiciones, lo cual, permitió comparar los resultados brindados por los analistas.

Finalmente se logró validar el método analítico para la determinación cuantitativa de neomicina y nistatina por el método de cilindro en placa (difusión en agar).

Palabras clave: antibiótico, valoración microbiológica, neomicina y nistatina.

## **Abstract**

The pharmaceutical industry is a pillar for the development of society, public health and for medicine, since it advances with the greatest impact in the world, thanks to its research advances in the discovery, development and manufacture of products that intervene in the human and animal health.

The pharmaceutical industry allows the production of essential medicines for the health and well-being of a population such as antibiotics, which are used when there is a bacterial disease, they act by inhibiting the synthesis of proteins in sensitive bacterial cells, therefore, the use Inadequate, poor storage or an error in production can lead to antibiotic resistance within the body, which means that it will not produce the desired effect within the body. This opens a gap that leads to the study and analysis of the correct use, storage and production of antibiotics.

The present work validated the analytical methodology of microbiological evaluation used in the laboratory of the AQM company to quantify Neomycin and Nystatin in raw material using as methodology the guidelines stipulated by the United States Pharmacopeia (USP) on the protocol and determination of the validation parameters. .

According to the results of the present study, the precision of the system in Neomycin and Nystatin presents a relative standard deviation of 2%, which is lower than the established limit of 10%, revealing an evident variation, however, before USP, which is the entity in charge of establishing the validation parameters, both percentages fully meet their objective. Additionally, a comparison was made between two analysts, allowing to increase the veracity and security of the results since both developed the method under the same conditions, which allowed comparing the results provided by the analysts.

Finally, it was possible to validate the analytical method for the quantitative determination of neomycin and nystatin by the plate cylinder method (agar diffusion).

Keywords: antibiotic, microbiological assessment, neomycin and nystatin.

## Introducción

La industria farmacéutica es de suma importancia para la salud pública ya que a través de esta surgen diversos fármacos o medicamentos que son utilizados para tratar diferentes patologías, por ende, existe un ente de control que se encarga de verificar y analizar si el medicamento cumple con los requisitos legales declarados por cada empresa teniendo en cuenta los parámetros que deben cumplir los productos farmacéuticos. Este ente de control de calidad permite que el medicamento y su presentación aseguren la dosis que se debe suministrar al paciente, por esta razón, las empresas farmacéuticas cuidan la dosificación de los productos garantizando así que el proceso de manufactura sea controlado para ofrecer productos de alta calidad (Daste, 2015).

Uno de los productos empleados para tratamiento de las infecciones bacterianas son los antibióticos, estos son sustancias de alto consumo que tienden a perder su actividad antimicrobiana con el tiempo o por el uso inadecuado, un mal almacenamiento o una mala elaboración del producto. Estos activos como la neomicina y la nistatina son compuestos utilizados para tratar infecciones bacterianas en la piel teniendo una acción bactericida, es decir, causan la muerte de la bacteria y, a su vez, inhiben la síntesis de proteínas en las células bacterianas sensibles (Cabrera, 2015).

El objetivo establecido en este estudio fue validar la metodología analítica de valoración microbiológica empleada en el laboratorio AQM para cuantificar neomicina y nistatina en materia prima utilizando los parámetros de validación establecidos por la USP vigente como lo son selectividad, especificidad, precisión del sistema, precisión del método (repetitividad), precisión intermedia (reproductibilidad), exactitud y la linealidad

del sistema. Finalmente, se presenta como resultado que el método empleado de difusión en agar para el análisis de valoración por potencia microbiológica cumple con los parámetros establecidos en la USP vigente ya que los resultados obtenidos se encuentran dentro de los criterios de aceptación planteados en la validación y se determina que el método es lineal, selectivo, preciso y exacto.



## 1 El problema en estudio

### 1.2. Planteamiento del problema

Las manufactureras farmacéuticas son un pilar para el desarrollo de la sociedad, sus avances tienen alcance en el contexto social, económico y político, esto debido a que se basa en el estudio, descubrimiento, desarrollo y elaboración de productos que intervienen en la salud humana y animal (Márquez, 2019).

Por ende, cuando se habla de salud sea humana o animal, se hace énfasis en el tratamiento de patologías, causadas por la presencia de microorganismos patógenos.

Los microorganismos se encuentran en ampliamente distribuidos en la naturaleza, y están en competencia por los nutrientes que se encuentran en su entorno, por lo cual producen múltiples metabolitos que utilizan como su mecanismo de defensa, dentro de estos tenemos los que generan patogenicidad y los antibióticos, los antibióticos son metabolitos que permite la neutralización o inhibición de otros microorganismos, los cuales se han utilizado en la industria farmacéutica para prevenir, curar o aliviar enfermedades causadas por microorganismos (Calisto et al., 2021; García, 2013 y Galán et al., 2019).

BBC new mundo (2022), refiere que en el 2019 más de 1,2 millones de personas murieron por enfermedades generada por bacterias resistentes a los antibióticos; la resistencia a los antibióticos ha sido causada por el mal uso de los mismos (Sánchez, 2019) por lo cual se da inicio a una era postantibiótica, en la cual la efectividad de los antibióticos se está haciendo nula debido a las múltiples enzimas hidrolíticas y mecanismos creados por las bacterias que las hacen resistentes (Gonzales et al., 2019; Vanegas y Jiménez, 2020).

Por lo descrito, se entiende que los medicamentos elaborados deben ser eficientes y confiables, por lo cual la USP, establece métodos de validación para garantizar la potencia y efectividad antimicrobiana de los fármacos, por ende, surge el siguiente interrogante ¿La metodología analítica usada en el laboratorio AQM S.A.S para análisis de valoraciones microbiológicas en los activos Nistatina y Neomicina es precisa, confiable y reproducible? Esto con el fin de brindar seguridad y confianza a quien utilice el producto.

## 2 Justificación

La finalidad de la industria farmacéutica permanentemente ha sido producir medicamentos de calidad y con total garantía de seguridad. El proceso de elaboración es muy estricto debido a que elaborar un producto destinado a curar enfermedades, salvar vidas o mejorar la calidad de vida ya sea humana o animal, no puede haber el mínimo margen para el error, lo que con lleva a que esté estrictamente regulada y supervisadas por entidades como el Invima (Tapias et al, 2011; Cabrera, 2015 y ICA, 2022).

De acuerdo a lo anterior, el principal objetivo del laboratorio AQM es producir resultados de alta calidad, se necesita el uso de medidas analíticas para que estos sean confiables, por lo cual se hizo la validación de un método analítico que nos permite determinar si el método cumple o no cumple con lo anterior establecido en la norma, es decir, nos garantiza un resultado cercano, mayor o igual al de referencia, sus referencias son protocolos ya establecido por la USP, donde indica los parámetros a evaluar como la exactitud, precisión del sistema, precisión del método, precisión intermedia, especificidad, linealidad e intervalo que están sujetos a la primera categoría de principio activo, debido a que se realizará la determinación de la potencia, es decir la cuantificación del principio activo, además de realizar la visualización de la capacidad de acción del antibiótico y medición del halo para verificación de inhibición o resistencia según los rangos establecidos por la USP vigente (Velandia et al., 2011 y Cabrera, 2015).

### **3 Propósito**

Validar la metodología analítica para valoración microbiológica por potencia de antibióticos corroborando que con los parámetros evaluados se lleven a cabo análisis de materias primas a base de antibióticos con total seguridad, calidad y confiabilidad, obteniendo soportes documentales del cumplimiento de parámetros estadísticos mediante los cuales se confirme que los resultados obtenidos al aplicar esta técnica son veraces y reproducibles.

## 4 Objetivos

### 4.1. Objetivo general

Validar la metodología analítica de valoración microbiológica empleada en laboratorios AQM para cuantificar Neomicina y Nistatina en materia prima.

### 4.2. Objetivos específicos

- Verificar que las condiciones, materiales e insumos empleados en el laboratorio para los análisis de potencia microbiológica no interfieran en los resultados del estudio.
- Determinar la viabilidad y validez del método de valoración microbiológica en placa por difusión en agar mediante la evaluación y cálculo de los parámetros de exactitud, precisión, linealidad, límite de cuantificación, límite de detección, especificidad y selectividad.
- Estandarizar la metodología analítica acorde a los parámetros exigidos en las farmacopeas.

## 5 Marco teórico

### 5.1. Antecedentes y/ estado del arte:

García (2013) determinó experimentalmente la potencia antibiótica de la gentamicina sulfato en el producto Multiderm crema del Laboratorio Farminindustria S.A mediante el método placa cilindro de "Valoración Microbiológica" descrita en la USP 35. La metodología empleada fue el método microbiológico placa-cilindro basado en los lineamientos dados en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP). Finalmente, con los resultados obtenidos se pudo concluir que el método microbiológico placa-cilindro para la determinación de la potencia antibiótica de gentamicina sulfato en el producto Multiderm crema De laboratorio Farminindustria S.A es confiable para demostrar la efectividad antibiótica; de acuerdo con los enriquecimientos de calidad establecidos por la USP 35. Pareja (2012) demostró mediante el diseño experimental con la evaluación estadística de los resultados experimentales y teniendo como base los criterios de aceptación permitidos, la especificidad del método, al no observarse ninguna interferencia en la determinación del principio activo ni de los excipientes ni "de los productos de degradación". De esta forma, mediante los estudios realizados se establece que las características de desempeño analítico cumplen con los requisitos para la aplicación analítica propuesta siendo confiable para ser utilizado en la comprobación de las especificaciones de calidad del producto a evaluar. Camacho y Arias (2008), implementó el procedimiento analítico para la determinación de potencia microbiológica de neomicina en crema tópica. Para lo anterior, se analizaron muestras provenientes de tres lotes piloto del producto, almacenadas en las siguientes condiciones: 20 °c – 60 % humedad relativa, 30 °C-70 % humedad relativa y 40 °C – 80 % humedad relativa. Se

establecieron nueve tratamientos como base del diseño experimental, los cuales consisten en combinaciones resultantes del método de extracción de la muestra con las condiciones de almacenamiento. Los resultados obtenidos revelaron que los tratamientos con éter fueron los más adecuados para la extracción de la muestra ya que presentaron halos de inhibición similares a los del estándar con el cual fueron comparados, se utilizaron como técnicas de siembra discos y pozos en el medio de cultivo.

Cabrera (2015) establece que el método microbiológico cilindro en Placa para valoración de la potencia de neomicina en productos triconjugados (neomicina + betametasona + clotrimazol), cumple con los parámetros de validación recomendados por la USP 38, pues la evaluación estadística de los resultados demostró que el método analítico es específico, selectivo, lineal, preciso y exacto en el intervalo de las concentraciones estudiadas. Por lo tanto, el método puede ser empleado como método de análisis en el control de calidad de rutina para determinación de potencia de neomicina en productos con esta composición.

Loor (2022) propuso estudios de precisión empleando una herramienta estadística importante como fue el análisis de varianza de un solo factor (ANOVA). Toda la propuesta metodológica fue descrita en un procedimiento específico para valorar gentamicina en solución inyectable y crema. En este estudio, se caracterizaron todas las condiciones metrológicas de calibración para medir el potencial del antibiótico, obteniendo toda la variabilidad asociada al modelo de regresión lineal simple, con una significancia de  $p < 0.01$ . El rango empleado para la concentración del estándar de gentamicina, para la cada curva de calibración fue de  $0.256 \mu\text{g/mL}$  a  $0.624 \mu\text{g/mL}$ , con una concentración

media de referencia de 0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Los límites de confianza fueron determinados exitosamente, debido a que se tomó en consideración el aporte de la dispersión del factor y del error. Finalmente, se comprobó la similitud de los límites de confianza entre las dos formas farmacéuticas y el tipo de comercialización empleando pruebas estadísticas como fueron Levene y Student, obteniendo que no existe diferencias estadísticamente significativas,  $p > 0.05$ . Palacios (2018) elaboró un estudio que consistió en emplear el método cilindro-placa con cultivos microbiológicos de la cepa *Kocuria Rhizophila* ATCC 9341, relacionando el diámetro del halo de inhibición de crecimiento del microorganismo con la potencia antibiótica. Los resultados indicaron que la potencia antibiótica de los medicamentos de marca es:  $253.57 \pm 13.95 \text{ mg}/5\text{mL}$ ,  $244.55 \pm 14.47 \text{ mg}/5\text{mL}$  y  $278.51 \pm 16.31 \text{ mg}/5\text{mL}$ . Por su parte, la potencia antibiótica de los medicamentos genéricos es:  $257.79 \pm 10.05 \text{ mg}/5\text{mL}$ ,  $259.63 \pm 12.75 \text{ mg}/5\text{mL}$  y  $253.31 \pm 11.64 \text{ mg}/5\text{mL}$ . Se concluyó que no hay diferencia significativa entre la potencia antibiótica de tres productos genéricos y tres productos de marca comercial. Además, se concluyó que no hubo diferencia significativa al comparar independientemente la potencia antibiótica de los productos genéricos y de marca comercial con el valor teórico que ambos refieren, estando dentro del rango de 225-300  $\text{mg}/5\text{mL}$  establecido por la USP-40.

## 6 Bases teóricas

### 6.1. Importancia de los antibióticos en la industria farmacéutica

Los medicamentos tienen como finalidad la cura o la prevención de enfermedades, a su vez están compuestos por una o varias sustancias principales,



aquella que ejercer una acción farmacológica se denomina principio activo y aquellos que no poseen ningún efecto, pero contribuyen a la formación de los medicamentos son llamados excipientes, los medicamentos por su parte deben cumplir tres requisitos primordiales para poder ser expendidos y utilizados, es decir todo medicamento debe ser seguro, eficaz y de calidad (Aranda y Rosasco, 2019). Los medicamentos antes de ser comercializados deben ser sometidos a rigurosas pruebas con el fin de demostrar su seguridad y eficiencia, la industria farmacéutica es de la principal fuente de financiación y la encargada del estudio e investigación de los medicamentos y la elaboración de los mismos (Domínguez et al., 2022 y Páez, 2018).

Por otro lado, para el aseguramiento de calidad, la Organización Mundial de la Salud (OMS) dicta trabajar bajo la formulación, implementación y evaluación de policías farmacéuticas nacionales, este sistema permite ordenar, priorizar, planificar, controlar y evaluar los procesos durante el ciclo de elaboración de un medicamento, es decir: producción, investigación, distribución, almacenaje, comercialización del medicamento en el país de origen, ese sistema permite abarcar cambios como la resistencia bacteriana de forma más certera e inequívoca (Jiménez, 2018).

## **6.2. Valoración de antibióticos**

Las evaluaciones microbiológicas antibióticas consisten en realizar comparaciones en condiciones de prueba idénticas, donde se analiza la inhibición de la multiplicación de microorganismos sensibles producidos por la concentración determinada a partir de la sustancia de referencia a la inhibición producida por la dilución de antibióticos que se evalúan. Este experimento coloca claramente la actividad antimicrobiana real del producto. Los estándares o patrones de referencia utilizados en

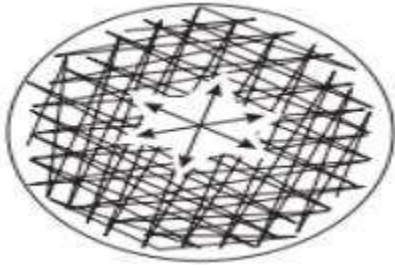
las pruebas microbiológicas son sustancias cuya resistencia (actividad) se ha determinado frente a sustancias de referencia que se pueden rastrear en patrones internacionales o preparación de referencias internacionales apropiadas (Iname y Anmat, 2003). Si se selecciona el modelo de línea paralela, las dos filas formadas por el logaritmo de dosificación (o una respuesta cambiada) de acuerdo con la preparación de la muestra y la preparación de referencia debe ser paralela. Para determinar si los antibióticos cumplen con los requisitos de energía especificados en la monografía apropiada, la evaluación debe repetirse y los resultados se unen estadísticamente hasta que se logre la precisión requerida (Iname y Anmat, 2003).

### **6.3. Técnica cilindro en placa**

El ensayo de cilindro-placa permite la medición de la potencia de un antibiótico, basándose en la medición del diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano que rodea a los cilindros que contienen distintas diluciones del compuesto de prueba, las cuales se colocan sobre la superficie de un medio nutritivo sólido inoculado previamente con un cultivo de microorganismo adecuado. La inhibición producida por el compuesto de ensayo se compara con la producida por concentraciones conocidas de un estándar conocido (Valencia et al., 2011).

## **Figura 1**

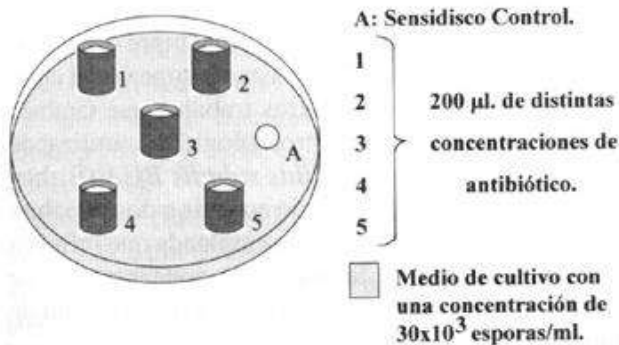
*Técnica de siembra*



Nota: siembra por difusión en superficie. Tomado de *efecto antibacteriano in vitro del látex de croton lechleri müll. arg. (sangre de grado) frente a Staphylococcus aureus*, por Espinoza y Serna (2018).

## Figura 2

*Técnica de cilindro-placa*



Nota: esquema de metodología. Tomado de *efecto antibacteriano in vitro del látex de croton lechleri müll. arg. (sangre de grado) frente a Staphylococcus aureus*, por Espinoza y Serna (2018).

### 6.4. Validación método microbiológicos

Proceso por el cual se busca establecer mediante evidencia analítica y ensayos de laboratorio que las características de las metodologías o aptitudes cumplen con los requisitos analíticos; es la comprobación de que los lineamientos o procedimientos establecidos para el desarrollo de los ensayos garantizan los resultados. (USP, 2022).

## **7 Parámetros a evaluar en una prueba**

### **7.1. Exactitud:**

La exactitud de un procedimiento analítico se comparan los resultados obtenidos de una prueba con el valor verdadero y mide su aproximación, es decir se mide el sesgo que hay entre los dos resultados para identificar si hay o no diferencias significativas; para la determinación de la exactitud se tiene un estándar de referencia, con ese

estándar se va a hacer la medición del sesgo para determinar si hay variación en la valoración de un antibiótico (USP, 2022).

## **7.2. Precisión:**

Se denomina precisión al grado de concordancia entre los resultados de las repeticiones individuales realizadas a una muestra homogénea bajo las mismas condiciones, esa puede conocerse como la medida del grado de reproducibilidad del procedimiento analítico bajo condiciones normales, cabe resaltar que existe una precisión intermedia conocida como tolerancia, que indica la variación de las condiciones ajenas al procedimiento como variaciones en el laboratorio (USP, 2022).

## **7.3. Especificidad:**

Es la capacidad de evaluar de forma inequívoca el analito de interés, en presencia de otros componentes es decir una muestra heterogénea donde se pueden presentar sustancias desconocidas (impurezas) sin alterar la identificación del analito en estudio (USP, 2022).

## **7.4. Límite de detección:**

En la determinación de la concentración del analito presente en la muestra, si la concentración es muy baja, no es necesario su cuantificación, lo importante es conocer si la concentración está por encima o por debajo del nivel determinado (USP, 2022).

## **7.5. Límite de cuantificación:**

Son valoraciones cuantitativas de los compuestos que se encuentran en bajas concentraciones en la matriz de una muestra llámense impurezas, productos de degradación, etc. además para procedimientos no instrumentales, esa se puede llevar a cabo con concentraciones estándares del analito en cuestión (USP, 2022).

## **7.6. Linealidad:**

Es la capacidad de un procedimiento analítico de obtener resultados de una prueba de forma proporcional, o sea, de forma directa o matemáticamente, siendo la linealidad la relación entre la concentración la medida de valoración; cuando se aplica la transformación matemática, los factores de corrección son usados en el análisis de regresión pueden variar (USP, 2022).

## **8 Metodología**

La metodología empleada fue el método microbiológico de difusión en agar, el cual fue basado en los lineamientos dados en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP, 2022) y lo descrito por Cabrera, (2015). Se utilizó un lote de neomicina y nistatina (lotes diferentes; como principios activos), un estándar USP, microorganismos como lo son *Staphylococcus Epidermidis* y *Saccharomyces Kudriavzevii* de cepa ATCC.

### **8.1. Línea de investigación**

#### **8.1.1 Resistencia microbiana**

La resistencia a los antibióticos ocurre cuando la presencia de microorganismos, bacterias, virus, hongos o parásitos es efectiva para el fármaco utilizado para curar la infección causada por los mismos.

## 8.2. Protocolo de validación

### 8.2.1. Preparación del buffer PH 8

Se pesó con exactitud cerca de 16,73 g de fosfato dibásico de potasio y 0,523 g de fosfato monobásico de potasio en 900 mL de agua destilada ajustado a pH 8 +/- 0,05 con ácido fosfórico de 18 N o hidróxido de potasio 10 N completado a 1000 mL con agua destilada.

### 8.2.2. Preparación del buffer pH 6 al 10 %

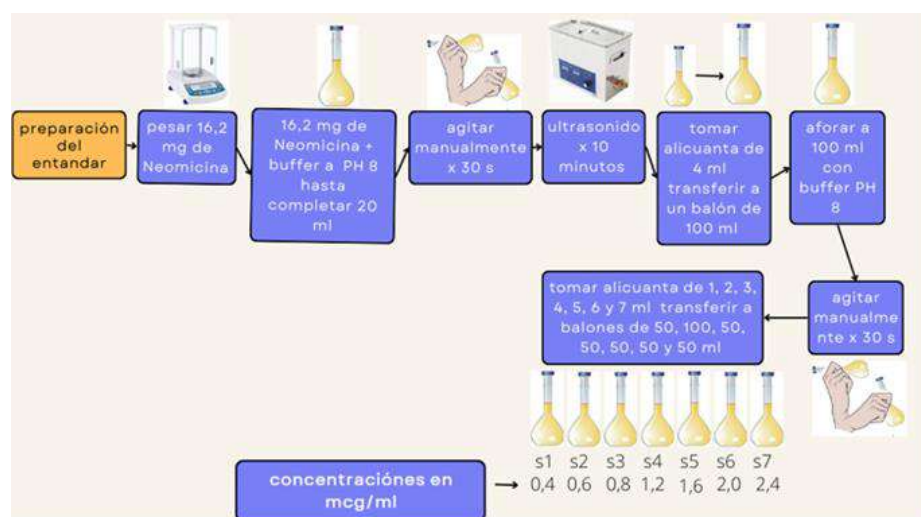
Se pesó con exactitud cerca de 20 g de fosfato dibásico de potasio GR y 80 g de fosfato monobásico de potasio GR en 900 mL de agua destilada ajustado a pH 6 +/- 0,05 con ácido fosfórico de 18 N o hidróxido de potasio 10 N completado a 1000 mL con agua destilada.

### 8.2.3. Preparación del estándar

#### 8.2.3.1. Neomicina sulfato

### Figura 3

Preparación del estándar de neomicina sulfato

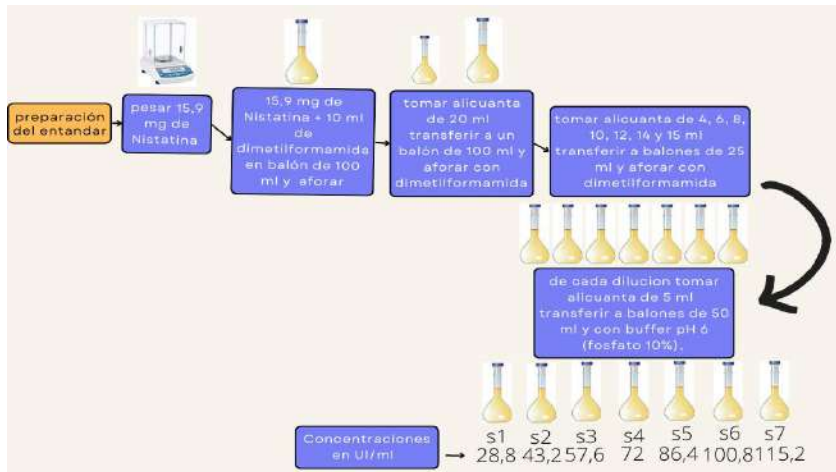


Nota: esta figura representa el paso a paso de la preparación del estándar de neomicina sulfato. Fuente: elaboración propia.

### 8.2.3.2. Nistatina

Figura 4

Preparación del estándar de Nistatina



Nota: esta figura representa el paso a paso de la preparación del estándar de neomicina sulfato. Fuente: elaboración propia.

### 8.2.3.3. Preparación de la muestra

Figura 5

Preparación de la muestra de Neomicina.

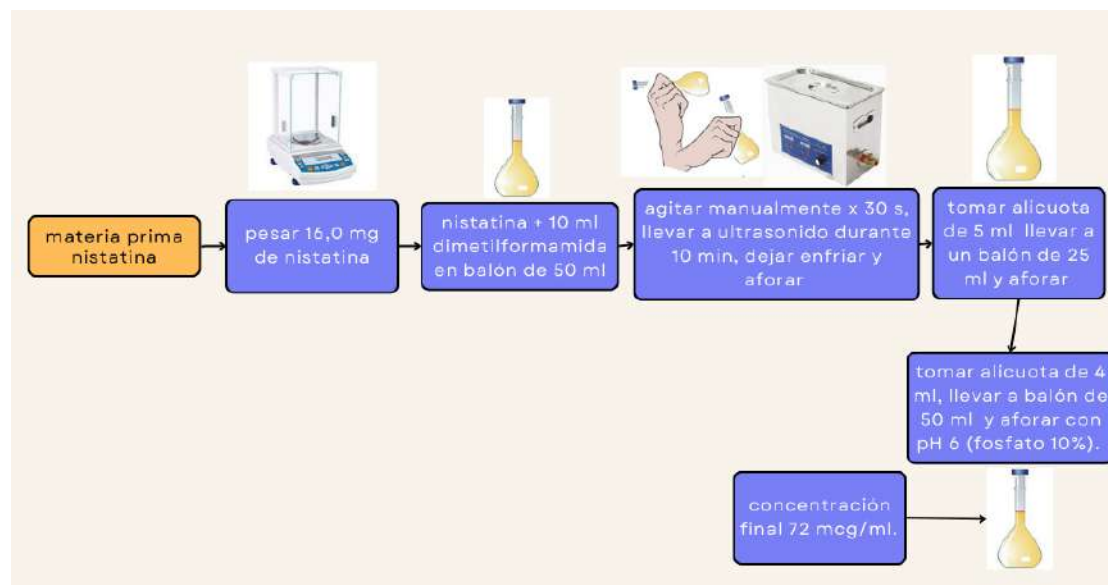


Nota: esta figura representa el paso a paso de la preparación de la muestra de neomicina. Fuente: elaboración propia.

Figura 6



### Preparación de la muestra de Nistatina.



*Nota:* esta figura representa el paso a paso de la preparación de la muestra de nistatina. *Fuente:* elaboración propia.

#### 8.2.3.4. Preparación del inóculo

***Staphylococcus epidermidis.*** De un cultivo reciente de *S. epidermidis* (18-24 horas de incubación) se realizó una suspensión en caldo ST a una transmitancia leída a 580 nm del 25 %. Se tomó 0,1 mL del inóculo y se transfirió a 100 mL de medio 11. (USP 2022)

***Preparación del inóculo Saccharomyces kudriavzevii.*** De un cultivo reciente de *S. kudriavzevii* (48 horas de incubación) se realizó una suspensión en caldo ST a una transmitancia leída a 580 nm del 25 %, se tomó 10 mL del inóculo y se transfirió a 100 mL de medio 19.

***Medio base y medio capa Neomicina.*** Las cajas se prepararon con 11 mL de medio 11 como base y como capa superficial se usa medio 11 del cual se deben adicionar 6 mL ya inoculados con el microorganismo.

**Medio base Nistatina.** Estas cajas no requieren capa base, las cajas se prepararon con 15 mL de medio 19 ya inoculado.

**Halos de hidrolisis por la técnica cilindro-placa.** Se hicieron pozos a los medios de cultivo, con el fin de inocular 75  $\mu$ l de las diferentes diluciones (figura 7). Sembrando 3 cajas por triplicado muestra y estándar.

## Figura 7

*Pozos a los medios de cultivo*



*Nota:* El diámetro de halo de inhibición fue medido en milímetro. *Fuente:* elaboración propia.

## 9. Determinación de los parámetros de validación

### 9.1. Selectividad (especificidad):

Se verificó la selectividad del método analítico teniendo en cuenta la capacidad de detectar el analito sin interferencias de otras sustancias o compuestos presentes en la muestra, para los ensayos se tomaron 3 muestras blanco sin presencia del analito 3 muestras de los productos.

El rango especificado para los %R de neomicina y nistatina en los diferentes procesos de degradación es de 5 % a 50 %.

### 9.2. Precisión del sistema:

Se tomaron seis muestras del estándar S4 se calculó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación de los resultados.

### 9.3. Precisión del método (repetitividad):

Se les aplicó el método a seis muestras al 100,0 % de la cantidad teórica declarada por las materias primas individuales e independientes realizadas por el mismo analista en las mismas condiciones de ensayo.

### 9.4. Precisión intermedia (Reproducibilidad):

Se les aplicó el método a seis muestras al 100,0 %, individuales e independientes realizadas por un analista diferente y en días diferentes.

Se calculó el promedio, desviación estándar y el coeficiente de variación, que se designa CVb. Para su cálculo se empleó el método de relación de coeficientes que determina la relación existente entre CVa (Coeficiente de Variación obtenido en Precisión del Método) y CVb, mediante la siguiente formula:

$$\text{Relación de Coeficientes} = \text{CVa} / \text{CVb}$$

El valor de esta relación debe estar entre 0,5 y 2 ( $0,5 < \text{Relación} < 2$ ) para afirmar que el método es reproducible.

### 9.5. Exactitud:

Se tomaron tres concentraciones del producto a analizar que incluyan el límite inferior, estándar y superior de la especificación del producto con respecto al declarado, se realizan preparaciones a diferentes concentraciones al 70 %, 100 % y 130 %.

Se realizaron 3 análisis de forma independiente por cada concentración del analito. Los datos obtenidos se relacionaron con el contenido real de la muestra, mediante el cálculo denominado porcentaje de recuperación:

$$\% R = (\text{Obtenido} / \text{Real}) \times 100$$

**Obtenido** = Valor obtenido en la cuantificación realizada mediante el análisis.

**Real** = Contenido real del analito, según los cálculos realizados durante la preparación de las muestras.

La exactitud del método se determinó empleando el valor promedio del porcentaje de recuperación, mediante la siguiente fórmula:

$$\mathbf{R_p = \Sigma \%R / n}$$

**R<sub>p</sub>**= Promedio de % de recuperación calculado con los datos individuales de todas las series.

**Σ %R**= Sumatoria de los % de recuperación.

**n**= Numero de datos

Con el **R<sub>p</sub>** se realiza la prueba t, calculando un valor T así:

$$\mathbf{TOB = |100\% - R_p| / RSD \times n^{1/2}}$$

**TOB** = Valor T obtenido de los datos del análisis.

**100%** = Medida del valor esperado.

**R<sub>p</sub>** = Promedio de % de recuperación.

**n** = Numero de datos (Cantidad de datos de porcentajes de recuperación)

**RSD**= Desviación estándar relativa o coeficiente de variación (CV), de los % de recuperación.

Si el **TOB** es menor que el **T<sub>Teor</sub>** para el nivel de significancia elegido, en este caso ( $\alpha = 0,05$ ) y **n-1** grados de libertad, significa que ambos valores (valor obtenido y valor teórico) no son estadísticamente diferentes y por lo tanto el método analítico tendrá la exactitud requerida para el rango de concentraciones incluidas en el análisis.

### **9.6. Linealidad:**

Para la linealidad se utilizó un rango de concentraciones más amplio que el intervalo de concentraciones a establecer; se preparó la matriz del producto y concentraciones crecientes del analito así: al 0,40 µg/mL, 0,60 µg/mL, 0,80 µg/mL 1,20 µg/mL 1,60 µg/mL y 2,40 µg/mL

Se realizó cuatro veces en cada concentración.

## **10. Resultados y discusión**

### **10.1. Especificidad**

Las evaluaciones realizadas con la solución diluyente y el analito presentados en la tabla 1, demuestra que el diluyente no genera halos de inhibición, por lo cual durante el proceso de validación de esta muestra no es fuente de alteración de las características presentadas por la Neomicina y nistatina, además, se obtuvo similitud en los halos presentados por el estándar y los analito sometidos a la prueba, lo que nos indica que el analito puede ser analizado de manera inequívoca, ya que esta nos permite determinar que las matrices que serán analizadas en la validación no presenten interferencias al sistema y adicional que cumplan especificación al prepáralas a la concentración de trabajo, además, Hurto y Vignolo, 2019, en el proceso de validación de la Gentamicina, obtuvieron en la evaluación de especificidad y selectividad resultados conformes, siendo estos determinados por la respuesta del diluyente, materia prima y

activo por potencia microbiológica encontrándose que el diluyente no genera halo de inhibición que interfiera con el generado por el analito en el estándar y en la muestras.

**Tabla 1**

*Datos de la especificidad*

<b>ITEM</b>	<b>PESO (mg)</b>	<b>HALO PROMEDIO (mm)</b>
Diluyente	1,0	N.D.
Estándar	16,2	16,48
Muestra	19,1	16,49

*Nota:* N.D.: No detectable. *Fuente:* elaboración propia.

## 10.2 Selectividad

Se realizó una valoración microbiológica a diferentes procesos de degradación para neomicina y nistatina (tabla 2 y 3). Se observa el resultado de degradación de la muestra según el tratamiento, obteniendo los siguientes resultados. La muestra degradada un 31,6 % y 39,7 % por efecto ácido respectivamente, un 8,37 % y 43,3 % por efecto básico, un 25,4 % y 47,3 % efecto térmico y por exposición a la luz solar se degradó un 28,8 % y 46,9 %. Así mismo se observó que pese a la degradación del principio activo, esto no altera las características de los analitos lográndose obtener halos de inhibición sin alteraciones. Lo que indica que el parámetro cumple con los criterios de aceptación plasmados en la USP, que son entre 5 % y 50 % de degradación. Indica, además, que el activo de neomicina es más sensible a tratamientos ácidos y para nistatina los tratamientos térmicos. Por lo tanto, en procesos de manufactura que impliquen el uso de estas muestras deben evitarse este tipo de ambientes.

**Tabla 2**

*Datos de la degradación para neomicina*

<b>Tipo de muestra/ Tratamiento</b>	<b>Peso (mg)</b>	<b>Halo de inhibición (mm)</b>	<b>Porcentaje obtenido</b>	<b>Porcentaje de degradación</b>
Estándar + HCl	16,2	13,10	68,4	31,6
Estándar + NaOH	16,2	13,74	92,2	7,83
Estándar + Calor	16,2	13,48	81,5	18,5
Estándar + Luz solar	16,2	13,16	70,2	28,8
Muestra + HCl	19,1	13,34	80,2	19,8
Muestra + NaOH	19,1	13,63	91,6	8,37
Muestra + Calor	19,1	13,19	74,6	25,4
Muestra + Luz solar	19,1	13,61	90,7	9,3

*Nota:* esta tabla presenta los datos de la degradación para neomicina según el tipo de muestra. *Fuente:* elaboración propia.

**Tabla 3**

*Datos de la degradación para nistatina*

<b>Tipo de muestra/ Tratamiento</b>	<b>Peso (mg)</b>	<b>Halo de inhibición (mm)</b>	<b>Porcentaje obtenido</b>	<b>Porcentaje de degradación</b>
Estándar + HCl	15,90	18,97	60,3	39,7
Estándar + NaOH	15,90	18,69	56,7	43,3
Estándar + Calor	15,90	18,36	52,7	47,3
Estándar + Luz solar	15,90	18,56	53,1	46,9
Muestra + HCl	16,0	20,37	84,2	15,8

Muestra + NaOH	16,0	18,92	61,2	38,8
Muestra + Calor	16,0	19,08	63,4	36,6
Muestra + Luz solar	16,0	18,51	53,7	46,3

*Nota:* esta tabla presenta los datos de la degradación para nistatina según el tipo de muestra. *Fuente:* elaboración propia.

### 10.3 Linealidad y exactitud

Para llevar a cabo este parámetro se prepararon 3 concentraciones de las muestras de neomicina y nistatina, una mínima al 70 %, una estándar al 100 % y una máxima del 130 %, con las concentraciones de 0.84 - 1.20 - 1.56 µg/mL respectivamente. Se realizaron 3 pruebas independientes al nivel de concentración, y con los halos medidos se determinaron las concentraciones obtenidas o concentraciones reales para cada uno de ellos.

Al realizar los cálculos de porcentajes recuperados para cada concentración se obtuvo datos entre 99.36 % y 101.16 % (tabla 4) con un promedio de principio activo % R de 100.28 % el cual se encuentra dentro del criterio de aceptación establecido en el protocolo de validación basado en la USP (95 % - 105 %).

Para estimar el grado con que se ajustan los puntos experimentales a la línea recta, se calcula es la linealidad y la exactitud, recibiendo datos aceptables para los dos casos de  $r^2$  mayor a 0.95 (tabla 6). Lo que demuestra que existe una correlación positiva entre las variables.

**Tabla 4**

*Datos de linealidad y exactitud*

%	Cantidad inicial (mg)	Concentración esperada (µg/mL)	Concentración recuperada (µg/mL)	Porcentaje de recuperación	DSR (%)
---	-----------------------	--------------------------------	----------------------------------	----------------------------	---------



70%	11,3	0,84	0,847	101,03	
70%	11,3	0,84	0,839	100,13	<b>0,68</b>
70%	11,3	0,84	0,838	99,69	
100%	16,2	1,20	1,201	100,15	
100%	16,2	1,20	1,211	101,05	<b>0,68</b>
100%	16,2	1,20	1,195	99,70	
130%	21,0	1,56	1,578	101,16	
130%	21,0	1,56	1,564	100,26	<b>0,90</b>
130%	21,0	1,56	1,550	99,36	

*Nota:* se presentan los datos de porcentaje de recuperación para cada concentración.  
*Fuente:* elaboración propia.

**Tabla 5.**

*Datos obtenidos de la linealidad del sistema*

%	CONCENTRACIÓN ( $\mu\text{g/mL}$ )	HALO 1	HALO 2	HALO 3	HALO 4	HALO PROMEDIO
33	0,40	14,27	14,43	14,27	14,33	14,33
50	0,60	14,73	15,27	14,73	15,07	14,95
67	0,80	15,50	15,43	16,00	15,50	15,61
100	1,20	16,10	16,40	16,20	17,10	16,45
133	1,60	17,53	17,47	17,87	17,93	17,70
167	2,00	18,37	17,83	18,10	18,27	18,14
200	2,40	18,17	18,27	18,17	18,57	18,29

*Nota:* esta tabla presenta los datos obtenidos de la linealidad del sistema. *Fuente:* elaboración propia.

**Tabla 6.**

*Resultados de las pruebas estadísticas para la linealidad del sistema*

Prueba estadística	Criterio	de Resultado
	<b>aceptación</b>	
Coefficiente de determinación	$r^2 > 0,95$	0,9548
Significancia de la pendiente	$F_{\text{CALCULADO}} > F_{\text{TABLA}}$	589,026 > 4,230

*Nota:* datos de criterios de aceptación y valor obtenido. *Fuente:* elaboración propia.

### 10.5. Linealidad del método

Con un peso del estándar de 16,2 mg y la potencia del estándar de 611,63  $\mu\text{g}$  de Neomicina por mg en B.S. y nistatina se obtuvieron los datos presentados en la tabla 7

de lo cual se obtuvo la ecuación: Halo (mm) = 7,0969 Log [Neomicina] + 16,5854 (tabla 8) y Halo (mm) = 11,8322 Log [Nistatina] – 0,8985 (tabla 9).

**Tabla 7**

*Datos obtenidos de la linealidad del método*

%	CONCENTRACIÓN (µg/mL)	HALO 1	HALO 2	HALO 3	HALO 4	HALO PROMEDIO
33	0,40	13,30	12,90	13,17	13,13	13,13
50	0,59	15,33	15,37	15,37	15,43	15,38
67	0,79	16,17	15,80	16,07	16,37	16,10
100	1,19	17,27	17,57	17,63	17,60	17,52
133	1,59	18,10	18,03	18,47	18,20	18,20
167	1,98	18,80	18,03	18,30	18,27	18,35
200	2,38	19,43	18,83	18,63	19,07	18,99

*Nota:* esta tabla presenta los resultados obtenidos de la linealidad del método. *Fuente:* elaboración propia.

**Tabla 8.**

*Resultados de las pruebas estadísticas para la linealidad del método de neomicina*

Prueba estadística	Criterio de aceptación	Resultado
Coefficiente de determinación	$r^2 > 0,95$	0,9523
Significancia de la pendiente	$F_{\text{CALCULADO}} > F_{\text{TABLA}}$	494,929 > 4,230

*Nota:* esta tabla contiene los datos de criterios de aceptación y valor obtenido para el caso de neomicina. *Fuente:* elaboración propia.

**Tabla 9.**

*Resultados de las pruebas estadísticas para la linealidad del método de nistatina*

<b>Prueba estadística</b>	<b>Criterio de aceptación</b>	<b>Resultado</b>
Coeficiente de determinación	$r^2 > 0,95$	0,9554
Significancia de la pendiente	$F_{\text{CALCULADO}} > F_{\text{TABLA}}$	$560,886 > 4,230$

*Nota:* esta tabla presenta datos de criterios de aceptación y valor obtenido para el caso de nistatina. *Fuente:* elaboración propia.

Se observó que, la realidad del método evaluada cumple con todos los criterios de aceptación y que existe una relación directamente proporcional entre la concentración del principio activo y la respuesta que genera.

### 10.6. Precisión del método

Se realizó una valoración microbiológica a 6 muestras obteniendo lecturas de halo del estándar al 100 % de la linealidad del sistema (tabla 10).

Se obtuvo entre los valores que el método para cuantificar neomicina y nistatina es repetitivo y que su coeficiente de variación no es mayor al 5 %, tal como lo indica el criterio de aceptación en la USP.

**Tabla 10**

*Datos de la precisión del método*

<b>Muestra</b>	<b>Peso de muestra (mg)</b>	<b>Halo (mm)</b>	<b>Resultado (<math>\mu\text{g}/\text{mg}</math>)</b>	<b>Resultado (%)</b>
1	16,2	16,72	631,39	105,23
2	16,2	16,70	625,76	104,29
3	16,2	16,66	617,41	102,90
4	16,2	16,74	637,07	106,18
5	16,2	16,70	625,76	104,29
6	16,2	16,66	617,41	102,90
	<b>G1 (Valor mínimo)</b>			<b>0,429</b>
	<b>G1 (Valor máximo)</b>			<b>0,571</b>

*Nota:* esta tabla presenta los datos de precisión del método. *Fuente:* elaboración propia.

### 10.7. Precisión del sistema

Se realizó el tratamiento estadístico con las 6 lecturas de halo obtenidas con el estándar al 100 % de la linealidad del sistema (tabla 11), demostrando así que La desviación estándar obtenida es de 0,82 % lo que indica que el método cumple con los criterios de aceptación dados por la USP ya que es menor al 10 %.

**Tabla 11**

*Datos del estándar para la precisión del sistema*

<b>Peso estándar (mg)</b>	<b>Concentración (µg/mL)</b>	<b>Lectura No.</b>	<b>HALO (mm)</b>
16,2	1,20	1	16,5
		2	16,6
		3	16,8
		4	16,6
		5	16,5
		6	16,8
<b>PROMEDIO</b>			<b>16,63</b>
<b>DSR (%)</b>			<b>0,82</b>

*Nota:* esta tabla presenta los datos del estándar para precisión del sistema. *Fuente:* elaboración propia.

### 10.8. Precisión intermedia

Dos analistas diferentes aplicaron el método a 6 muestras individuales e independientes del producto al 100 % de concentración de los analitos de interés analizando los resultados durante dos días (tablas 12 y 13).

Se demostró mediante el cálculo de los coeficientes de variación de las muestras un valor comprendido entre 0,5 y 2,0 por lo cual se comprueba que el método es reproducible.

**Tabla 12**

*Datos y resultados de las muestras para precisión intermedia: Analista 1 y 2 Día 1.*

Muestra	Peso de muestra (mg)	Analista 1		
		Halo (mm)	Resultado ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	Resultado (%)
1	16,2	16,72	631,29	105,23
2	16,2	16,70	625,76	104,29
3	16,2	16,66	617,41	102,90
<b>CVb</b>				<b>1,126</b>
Analista 2				
1	16,2	16,65	614,65	102,44
2	16,2	16,72	631,39	105,23
3	16,2	16,68	620,18	103,36
<b>CVb</b>				<b>1,371</b>

*Nota:* esta tabla presenta los resultados para precisión intermedia de analista 1 y 2 en el día 1. *Fuente:* elaboración propia.

**Tabla 13**

*Datos y resultados de las muestras para precisión intermedia: Analista 1 y 2 Día 2*

<b>Analista 1</b>					
<b>Muestra</b>	<b>Peso de muestra (mg)</b>	<b>de Halo (mm)</b>	<b>Resultado (µg/mg)</b>	<b>Resultado (%)</b>	
1	16,2	13,92	628,52	104,75	
2	16,2	13,96	638,30	106,38	
3	16,2	13,94	635,02	105,84	
<b>CVb</b>				<b>0,785</b>	
<b>Analista 2</b>					
1	19,1	13,94	635,02	105,84	
2	19,1	13,96	638,30	106,38	
3	19,1	13,92	628,52	104,75	
<b>CVb</b>				<b>0,785</b>	

*Nota:* esta tabla presenta los resultados para precisión intermedia de analista 1 y 2 en el día 2. *Fuente:* elaboración propia.

### 10.9. Límite de detección

Se prepararon tres muestras a evaluar de diferentes concentraciones 0,10 - 0,20 – 0,40 µg/mL, se observó que la concentración de 0,10 µg/mL no presentó respuesta, se estima que el límite de detección es 0,20 µg/mL, ya que es la mínima concentración de activo a la que se obtuvo un halo de inhibición (tabla 14), logrando así establecer el límite detectable.

**Tabla 14**

*Datos y lecturas del límite de detección*

<b>Muestra No.</b>	<b>Peso estándar (mg)</b>	<b>de Concentración de Neomicina (µg/mg)</b>	<b>Halo (mm)</b>
1	16,2	0,100	N.D.
2	16,2	0,199	9,86

3	16,2	0,399	11,79
---	------	-------	-------

*Nota:* N.D.: No detectable y N.A.: No aplica. *Fuente:* elaboración propia.

### 10.10. Límite de cuantificación

Para determinar el límite de cuantificación, se realizó un ensayo de recuperación a 0,40µg/mg con 6 muestras; se determinó que el límite de cuantificación de 0,40 µg/mL es preciso y exacto, superando al doble en concentración al límite de detección con una recuperación de 100,50 %, en un intervalo de ± 0,88 % y con un coeficiente de variación de 1,06 % y, por lo tanto, es válido para la cuantificación (tabla 15).

**Tabla 15**

*Datos y resultados del límite de cuantificación*

No.	Cantidad inicial (mg)	Concentración esperada (µg/mL)	Concentración recuperada (µg/mL)	Porcentaje de recuperación
1	16,2	0,40	0,403	100,94
2	16,2	0,40	0,406	101,85
3	16,2	0,40	0,397	99,60
4	16,2	0,40	0,399	100,04
5	16,2	0,40	0,395	99,15
6	16,2	0,40	0,404	101,40
<b>PROMEDIO</b>				<b>100,50</b>
<b>DSR (%)</b>				<b>1,06</b>

*Nota:* esta tabla presenta los resultados de límite de cuantificación. *Fuente:* elaboración propia.

## 11. Análisis de resultados

**11.1 Especificidad:** en la especificidad se demostró que el diluyente no genera halos de inhibición, por lo cual durante el proceso de validación de esta muestra no es fuente de alteración de las características presentadas por la neomicina y nistatina, además, se obtuvo similitud en los halos presentados por el estándar y los analitos sometidos a la prueba, lo que nos indica que el analito puede ser analizado de manera inequívoca

**11.2. Selectividad:** en este parámetro, se observa el resultado de degradación de la muestra según el tratamiento obteniendo los siguientes resultados: la muestra degradada un 31,6 % y 39,7 % por efecto ácido respectivamente, un 8,37 % y 43,3 % por efecto básico, un 25,4 % y 47,3 % efecto térmico y por exposición a la luz solar se degradó un 28,8 % y 46,9 %. Así mismo se observó que pese a la degradación del principio activo, esto no altera las características de los analitos lográndose obtener halos de inhibición sin alteraciones. Lo que indica que el parámetro cumple con los criterios de aceptación plasmados en la USP, que son entre 5 % y 50 % de degradación. Señala, además, que el activo de neomicina es más sensible a tratamientos ácidos y para nistatina los tratamientos térmicos. Por lo tanto, en procesos de manufactura que impliquen el uso de estas muestras deben evitarse este tipo de ambientes.



**11.3 Linealidad y exactitud:** en este estudio al realizar los cálculos de los porcentajes de recuperación para cada concentración se obtuvo datos entre 99.36 % y 101.16 % con un promedio de principio activo % R de 100.28 % el cual se encuentra dentro del criterio de aceptación establecido por la USP (95 % - 105 %).

Para evaluar el grado desde el cual los puntos experimentales se ajustan a la línea recta obtenida en regresión, se calcularon los coeficientes de correlación para la linealidad y la precisión, recibiendo datos aceptables para dos casos de  $r^2$  (mayor a 0,95). Lo que demuestra que existe una correlación positiva entre las variables de la exactitud y la linealidad.

**11.4 Linealidad del método:** en este parámetro se observó que, la realidad del método evaluada cumple con todos los criterios de aceptación y que existe una relación directamente proporcional entre la concentración del principio activo y la respuesta que genera.

**11.5 Precisión del método:** en la precisión del método se obtuvo entre los valores que el método es repetitivo y que su coeficiente de variación no es mayor al 5 %, tal como lo indica el criterio de aceptación en la USP.

**11.6. Precisión del sistema:** que La desviación estándar obtenida es de 0,82 % lo que indica que el método cumple con los criterios de aceptación dados por la USP ya que es menor al 10 %.

**11.7. Precisión intermedia:** Se demostró mediante el cálculo de los coeficientes de variación de las muestras un valor comprendido entre 0,5 y 2,0 por lo cual se comprueba que el método es reproducible.

**11.8. Límite de detección:** se estima que el límite de detección es 0,20 µg/mL, ya que es la mínima concentración de activo a la que se obtuvo un halo de inhibición logrando así establecer el límite detectable.

**11.9. Límite de cuantificación:** se determinó que el límite de cuantificación de 0,40 µg/mL es preciso y exacto, superando al doble en concentración al límite de detección con una recuperación de 100,50 %, en un intervalo de  $\pm 0,88$  % y con un coeficiente de variación de 1,06 % y, por lo tanto, es válido para la cuantificación.

## 12. Conclusiones

Los resultados obtenidos en la validación permiten concluir que el método empleado de difusión en agar para el análisis de valoración por potencia microbiológica cumple con los parámetros establecidos en la USP vigente ya que los resultados analíticos y estadísticos obtenidos se encuentran dentro de los criterios de aceptación planteados en la validación. Se determina que el método es lineal, selectivo, preciso y exacto.

Se verificó que las condiciones, materiales e insumos empleados en el laboratorio para los análisis de potencia microbiológica no interfieran en los resultados del estudio.

Se determina que los materiales e insumos empleados en el laboratorio para la ejecución de la validación son adecuados y cumplen con los requisitos establecidos en las farmacopeas (medios de cultivo, cepa microbiológica y sustancias reactivas armonizadas) ya que no presentan interferencias en la obtención de los resultados comprobándose en el parámetro de especificidad del método que los resultados del estándar y la muestra se encuentran dentro de los criterios de aceptación.

Se estandariza la metodología analítica para el análisis de rutina de las materias primas de neomicina y nistatina ya que en los parámetros de precisión se corrobora que el método es repetitivo y reproducible lo cual permite mantener un comportamiento constante en los resultados de las valoraciones que se ejecuten empleando estas

metodologías.

### **13. Recomendaciones**

Se recomienda este tipo de análisis ya que se obtienen resultados confiables y seguros. Además, presente márgenes de error y desviaciones estándares relativas mínimas, asegurando así la veracidad de los datos.

Los parámetros validados y establecidos en esta metodología se deben incluir en los procedimientos. Adicionalmente, se debe ejecutar la técnica cada vez que de materia prima se trate el analito acorde a lo establecido en la validación.

Cada vez que se proporcione un cambio en los parámetros se debe hacer una revalidación, pues según la norma no se debe realizar cambios sin antes hacer un ajuste de técnica

Se recomienda ejecutar estas técnicas con personal capacitado y con experiencia para así evitar el gasto inadecuado de insumo ya que estos presentan un alto costo económicos.

## 14. Referencias

Aranda, Mónica, & Rosasco, María Ana. (2019). *La farmacia de los medicamentos genéricos*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas*, 48(2), 357-371.  
<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n2.82714>

BBC news mundo. (2020). *"Pandemia silenciosa": las infecciones por bacterias resistentes a antibióticos matan más personas que la malaria y el sida*. [Online]. Disponible en:  
<https://www.bbc.com/mundo/noticias-60073805#:~:text=M%C3%A1s%20de%201%2C2%20millones,casi%203.500%20fallecimientos%20cada%20d%C3%ADa>.

Becerra Olvera, W. J. (2009). *Validación de la adecuación del método farmacopeico para la valoración del antibiótico neomicina por difusión en agar, para asegurar la fiabilidad de los resultados*. Tomado de:  
<https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/23700/BECERRA%20OLVERA%20WENDY%20JACQUELINE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Cabrera Pazmino, C. (2015). *Validación de método microbiológico cilindro en placa para determinación de la potencia de neomicina en productos farmacéuticos triconjugado*. Disponible en:  
<https://repositorio.ucm.edu.co/bitstream/10839/1244/1/Carolina%20Cabrera%20Pazmino.pdf>.

Calisto, Nancy, Navarro, Laura, Orellana, Paz, Wiese, Guillermo, Gómez, Claudio, Salazar, Lorena, Cortés-Cortés, Piedad, Gutiérrez-Moraga, Ana, Gidekel, Manuel, & Corsini, Gino. (2021). Resistencia a antibióticos y actividad antimicrobiana de aislados bacterianos de suelo antártico. *Anales del Instituto de la Patagonia*, 49, 19. Epub 25 de enero de 2022. <https://dx.doi.org/10.22352/aip202149018>

Camacho, A., & Palacios, J. D. C. A. (2003). Implementación y estandarización de la técnica para la determinación de potencia microbiológica de neomicina en crema tópica fabricada en una planta productora de medicamentos. *Universitas Scientiarum*, 8(1), 39-46. Tomado de: <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/4847/>

Carrasco Sánchez, M. D. J., Centeno Reyes, D. R., & Icaza Larios, L. C. (2016). *Estudio comparativo de la potencia antibiótica de amoxicilina cápsula 500mg en presentación genérica vs comercial, septiembre-octubre 2015, León-Nicaragua* (Doctoral dissertation).

Daste Ramírez, C. E. (2015). *Control de Calidad en la Industria Farmacéutica* (Bachelor's thesis, PUCE). Tomado de: <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/8731>

Domínguez-Alegría, A. R., Pinto-Pastor, P., Herreros, B., & Real-de-Asúa, D. (2022). ¿ Debe la industria farmacéutica participar en la formación médica continuada?. *Revista Clínica Española* Volume 222, Issue 7, August–September 2022, Pages 393-400. <https://doi.org/10.1016/j.rce.2021.11.005>.

- Espinoza Rivera, C. M., & Serna Quispe, Z. D. (2018). Efecto antibacteriano in vitro del látex de croton lechleri müll. arg.(sangre de grado) frente a staphylococcus aureus. Tomado de: <http://intra.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2985/Tesis%20SERNA%20QUISPE%20-%20ESPINOZA%20%20RIVERA.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Fernández Riverón, F., López Hernández, J., Ponce Martínez, L. M., & Machado Betarte, C. (2003). Resistencia bacteriana. Revista cubana de medicina militar, 32(1), 0-0.
- García Chuqui, J. C. (2013). Determinación y cuantificación de gentamicina sulfato en multiderm crema del laboratorio farmindustria sa por potencia antibiótica. Tomado de: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1283>
- Galán Luna, M. J., Hernández Pérez, V. H., Ramírez Contla, D. M., Flores Alatorre Hernández, L., Chávez Güitrón, L., & Garrido Hernández, A. (2019). Incremento del efecto antibiótico contra la cepa Staphylococcus aureus del extracto de grana cochinilla (Ac) con hidroxiapatita (HAp). Pádi Boletín Científico De Ciencias Básicas E Ingenierías Del ICBI, 7(Especial-2), 14-18. <https://doi.org/10.29057/icbi.v7iEspecial-2.4742>
- González Mendoza, Jorge, Maguiña Vargas, Ciro, & González Ponce, Flor de María. (2019). *Resistance to antibacterial agents: A serious problem. Acta Médica Peruana*, 36(2), 145-151. Recuperado en 26 de octubre de 2022, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S172859172019000200011&lng=es&tlng=en](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172859172019000200011&lng=es&tlng=en)

Huerto Huapaya, C. A., & Vignolo Asencio, L. E. (2019). *Validación de Método Microbiológico Cilindro-Placa para Cuantificación de Gentamicina sulfato en Dermolab NF crema de Laboratorios Vitapharma SAC, Lima 2018.*

Institución colombiana agropecuario ICA. (2022). *Medicamentos, Biológicos y Farmacovigilancia.* [Online]. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/regulacion-y-control-de-medicamentos-veterinarios.aspx>

Instituto Nacional del Medicamento (INAME), *Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT).* (2003). *Farmacopea Argentina Séptima Edición, Volumen I.* Tomado de: [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip\\_pages/Farmacopea\\_Vol\\_I/files/assets/basic-htmL/page23.html](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_I/files/assets/basic-htmL/page23.html)

Jiménez Herrera, L. G. (2018). La política nacional de medicamentos en el contexto de América Latina. *Revista Cubana de Salud Pública*, 44, 398-421. Tomado de: <https://www.scielosp.org/article/rcsp/2018.v44n2/398-421/>

La United States Pharmacopeial Convention (USP). (2022). Validación de procedimientos farmacopeicos. DOI: [https://doi.org/10.31003/USPNF\\_M99945\\_04\\_02](https://doi.org/10.31003/USPNF_M99945_04_02)



Loor, A. (2022). *Determinación de límites de confianza en valoración microbiológica de gentamicina de dos formas farmacéuticas bajo la venta de medicamento genérico o de marca utilizando el método cilíndrico placa*. [Tesis maestría]. Escuela Superior Politécnica del Litoral, de <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/56484>.

Márquez, M. M. (2019). Configuración económica de la industria farmacéutica. *Actualidad Contable Faces*, 22(38), 61-100.

Palacios, N. (2018). potencia antibiótica de la eritromicina etilsuccinato 250mg/5mL de medicamentos de marca comercial y genéricos regulados por la digemid arequipa, 2017-2018

Pareja Aivar, L. (2012). *Desarrollo y validación de un método analítico para la cuantificación de gentamicina en un producto farmacéutico en crema por potencia antibiótica*. Tomado de: <http://hdl.handle.net/20.500.12918/836>

Páez, R. (2018). *Pautas bioéticas: la industria farmacéutica entre la ciencia y el mercado*. Fondo de Cultura Económica. Tomado de: [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=U\\_Z5DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT5&dq=industria+farmac%C3%A9utica&ots=eGqlurPhUI&sig=ew6B3x8bTDSt6RTq5hWgSIb2iSc#v=onepage&q=industria%20farmac%C3%A9utica&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=U_Z5DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT5&dq=industria+farmac%C3%A9utica&ots=eGqlurPhUI&sig=ew6B3x8bTDSt6RTq5hWgSIb2iSc#v=onepage&q=industria%20farmac%C3%A9utica&f=false)

Sánchez, A. C. (2019). *Uso, abuso y mal uso de los antibióticos*. Revista: EnfermeríaCyL, 11(1), 181-188.

Tapias, William (2011). "Validación concurrente del proceso de manufactura de crotimazol 1g % - Gentamicina sulfato 0.1 g % - Dexametasona acetato 0,04 g % (p/p) crema tópica"  
<https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/2470/Tapia%20Ram%c3%adrez%2c%20Willian%20Enrique.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

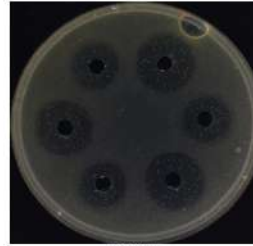
Vanegas-Múnera, J. M., & Jiménez-Quiceno, J. N. (2020). *Resistencia antimicrobiana en el siglo XXI: ¿ hacia una era postantibiótica?*. Revista Facultad Nacional de Salud Pública, 38(1).

Velandia-Castellanos, Carolina, Peña-Páez, Viviana, & Arias-Palacios, Janeth. (2011). *Validación del método analítico para la cuantificación de bacitracina*. Revista Cubana de Farmacia, 45(2), 216-225. Recuperado en 27 de octubre de 2022, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S003475152011000200006&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003475152011000200006&lng=es&tlng=es)

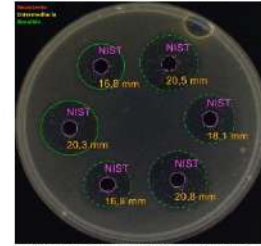
## 15. Anexos

EXACTITUD 70%

interscience



Muestra



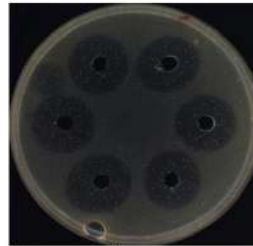
Muestra analizada con SCAN6®, versión 8.5.1.0

Autor:	JARZUAGA	NIST Nistatina Kv:	S	20,5 mm	11 / 14
Muestra N°:	70% (ST-MT)-1	NIST Nistatina Kv:	S	18,1 mm	11 / 14
Fecha Hora:	09/06/2022 16:41:32	NIST Nistatina Kv:	S	20,8 mm	11 / 14
Estándar:	MIS DATOS	NIST Nistatina Kv:	S	16,8 mm	11 / 14
Bacteria:	Saccharomyces	NIST Nistatina Kv:	S	20,3 mm	11 / 14
Comentario:		NIST Nistatina Kv:	S	16,8 mm	11 / 14
OK					

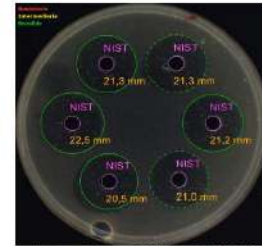
Archivo: 70%.bio

EXACTITUD 100%

interscience



Muestra



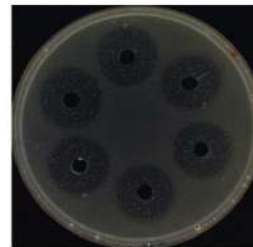
Muestra analizada con SCAN6®, versión 8.5.1.0

Autor:	JARZUAGA	NIST Nistatina Kv:	S	21,3 mm	11 / 14
Muestra N°:	100% (ST-MT)-1	NIST Nistatina Kv:	S	21,2 mm	11 / 14
Fecha Hora:	09/06/2022 16:49:46	NIST Nistatina Kv:	S	21,0 mm	11 / 14
Estándar:	MIS DATOS	NIST Nistatina Kv:	S	20,5 mm	11 / 14
Bacteria:	Saccharomyces	NIST Nistatina Kv:	S	22,5 mm	11 / 14
Comentario:		NIST Nistatina Kv:	S	21,3 mm	11 / 14
OK					

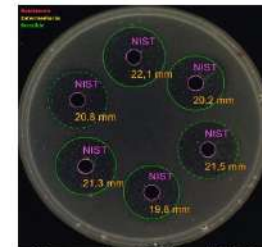
Archivo: 100%.bio

EXACTITUD 130%

interscience



Muestra



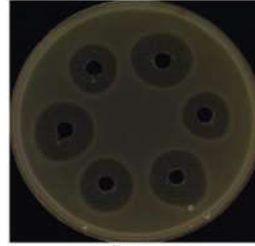
Muestra analizada con SCAN6®, versión 8.5.1.0

Autor:	JARZUAGA	NIST Nistatina Kv:	S	20,2 mm	11 / 14
Muestra N°:	130% (ST-MT)-1	NIST Nistatina Kv:	S	21,5 mm	11 / 14
Fecha Hora:	09/06/2022 16:57:00	NIST Nistatina Kv:	S	19,8 mm	11 / 14
Estándar:	MIS DATOS	NIST Nistatina Kv:	S	21,3 mm	11 / 14
Bacteria:	Saccharomyces	NIST Nistatina Kv:	S	20,8 mm	11 / 14
Comentario:		NIST Nistatina Kv:	S	22,1 mm	11 / 14
OK					

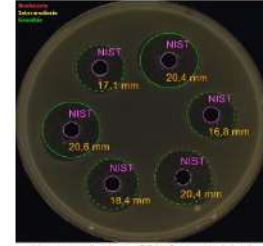
Archivo: 130%.bio

LIMITE DE CUANTIFICACION

interscience



Muestra



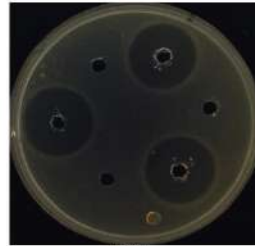
Muestra analizada con SCAN®, versión 8.5.1.0

Autor : JARZUAGA	NIST Nistatina Kv : S	20,4 mm	11 / 14
Muestra N° : LC1 (ST-MT)-1	NIST Nistatina Kv : S	16,8 mm	11 / 14
Fecha Hora : 22/06/2022 17:51:29	NIST Nistatina Kv : S	20,4 mm	11 / 14
Estándar : MIS DATOS	NIST Nistatina Kv : S	18,4 mm	11 / 14
Bacteria : Saccharomyces	NIST Nistatina Kv : S	20,6 mm	11 / 14
Comentario : OK	NIST Nistatina Kv : S	17,1 mm	11 / 14

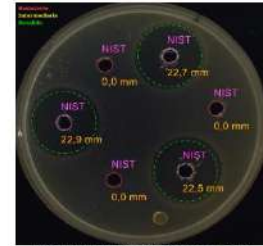
Archivo : LC.bio

LIMITE DE DETECCION  
CONCENTRACION 1

interscience



Muestra



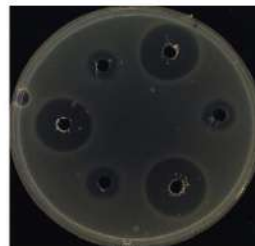
Muestra analizada con SCAN®, versión 8.5.1.0

Autor : JARZUAGA	NIST Nistatina Kv : S	22,7 mm	11 / 14
Muestra N° : LD 1 (ST-MT)-1	NIST Nistatina Kv : R	0,0 mm	11 / 14
Fecha Hora : 14/06/2022 17:11:37	NIST Nistatina Kv : S	22,5 mm	11 / 14
Estándar : MIS DATOS	NIST Nistatina Kv : S	0,0 mm	11 / 14
Bacteria : Saccharomyces	NIST Nistatina Kv : S	22,9 mm	11 / 14
Comentario : OK	NIST Nistatina Kv : R	0,0 mm	11 / 14

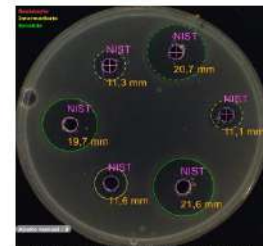
Archivo : LD.bio

LIMITE DE DETECCION  
CONCENTRACION 2

interscience



Muestra



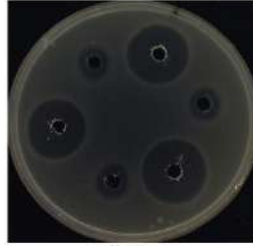
Muestra analizada con SCAN®, versión 8.5.1.0

Autor : AGARCIA	NIST Nistatina Kv : S	20,7 mm	11 / 14
Muestra N° : LD 2 (ST-MT)-1	NIST Nistatina Kv : I	11,1 mm	11 / 14
Fecha Hora : 14/06/2022 17:12:11	NIST Nistatina Kv : S	21,6 mm	11 / 14
Estándar : MIS DATOS	NIST Nistatina Kv : I	11,6 mm	11 / 14
Bacteria : Saccharomyces	NIST Nistatina Kv : S	19,7 mm	11 / 14
Comentario : OK	NIST Nistatina Kv : I	11,3 mm	11 / 14

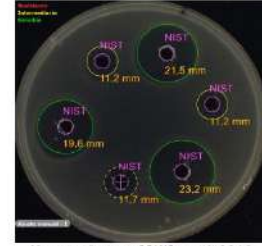
Archivo : LD.bio

LIMITE DE DETECCION  
CONCENTRACION 3

interscience



Muestra



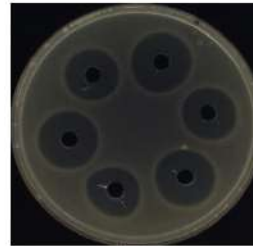
Muestra analizada con SCAN®, versión 8.5.1.0

Autor :	AGARCIA	NIST Nistatina Kv :	S	21,5 mm	11 / 14
Muestra N° :	LD 3 (ST-MT)-1	NIST Nistatina Kv :	I	11,2 mm	11 / 14
Fecha Hora :	14/09/2022 17:12:51	NIST Nistatina Kv :	S	23,2 mm	11 / 14
Estándar :	MIS DATOS	NIST Nistatina Kv :	I	11,7 mm	11 / 14
Bacteria :	Saccharomyces	NIST Nistatina Kv :	S	19,6 mm	11 / 14
Comentario :	OK	NIST Nistatina Kv :	I	11,2 mm	11 / 14

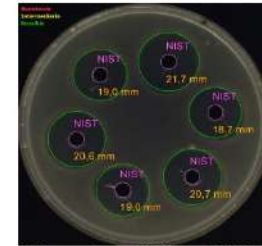
Archivo : LD.bio

TRATAMIENTO ACIDO

interscience



Muestra



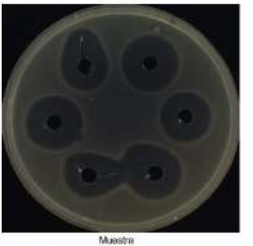
Muestra analizada con SCAN®, versión 8.5.1.0

Autor :	AGARCIA	NIST Nistatina Kv :	S	21,7 mm	11 / 14
Muestra N° :	T.A (ST-ST)-1	NIST Nistatina Kv :	S	18,7 mm	11 / 14
Fecha Hora :	16/09/2022 14:40:56	NIST Nistatina Kv :	S	20,7 mm	11 / 14
Estándar :	MIS DATOS	NIST Nistatina Kv :	S	19,0 mm	11 / 14
Bacteria :	Saccharomyces	NIST Nistatina Kv :	S	20,6 mm	11 / 14
Comentario :	OK	NIST Nistatina Kv :	S	19,0 mm	11 / 14

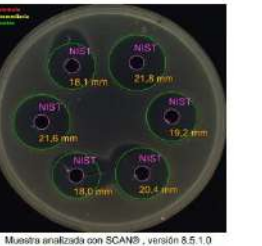
Archivo : TRATAMIENTO ACIDO.bio

TRATAMIENTO BASICO

interscience



Muestra



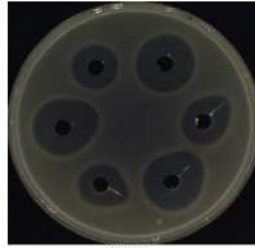
Muestra analizada con SCAN®, versión 8.5.1.0

Autor :	AGARCIA	NIST Nistatina Kv :	S	21,8 mm	11 / 14
Muestra N° :	T.B (ST-ST)-1	NIST Nistatina Kv :	S	19,2 mm	11 / 14
Fecha Hora :	16/09/2022 14:39:41	NIST Nistatina Kv :	S	20,4 mm	11 / 14
Estándar :	MIS DATOS	NIST Nistatina Kv :	S	18,0 mm	11 / 14
Bacteria :	Saccharomyces	NIST Nistatina Kv :	S	21,6 mm	11 / 14
Comentario :	OK	NIST Nistatina Kv :	S	18,1 mm	11 / 14

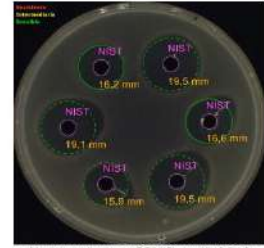
Archivo : TRATAMIENTO BASICO.bio

## TRATAMIENTO TERMICO

interscience



Muestra



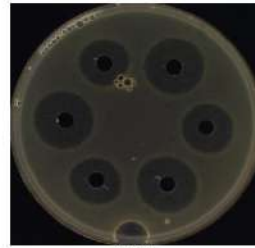
Muestra analizada con SCAN®, versión 8.5.1.0

Autor :	JARZUAGA	NIST Nistatina Kv :	S	19,5 mm	11 / 14
Muestra N° :	T.T (ST-ST)-1	NIST Nistatina Kv :	S	16,6 mm	11 / 14
Fecha Hora :	18/11/2022 14:57:38	NIST Nistatina Kv :	S	19,5 mm	11 / 14
Estándar :	MIS DATOS	NIST Nistatina Kv :	S	15,8 mm	11 / 14
Bacteria :	Saccharomyces	NIST Nistatina Kv :	S	19,1 mm	11 / 14
Comentario :		NIST Nistatina Kv :	S	16,2 mm	11 / 14
OK					

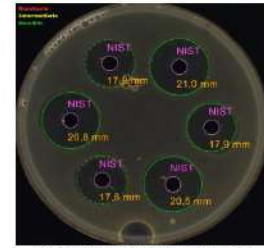
Archivo : TRATAMIENTO TERMICO.bio

## TRATAMIENTO UV

interscience



Muestra



Muestra analizada con SCAN®, versión 8.5.1.0

Autor :	JARZUAGA	NIST Nistatina Kv :	S	21,0 mm	11 / 14
Muestra N° :	T.UV (ST-MT)-1	NIST Nistatina Kv :	S	17,9 mm	11 / 14
Fecha Hora :	22/06/2022 15:58:36	NIST Nistatina Kv :	S	20,5 mm	11 / 14
Estándar :	MIS DATOS	NIST Nistatina Kv :	S	17,8 mm	11 / 14
Bacteria :	Saccharomyces	NIST Nistatina Kv :	S	20,8 mm	11 / 14
Comentario :		NIST Nistatina Kv :	S	17,8 mm	11 / 14
OK					

Archivo : T\_UV.bio