



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**VERIFICACIÓN DEL MÉTODO: CONTENIDO DE CROMO
TOTAL EN SUTURAS CATGUT CRÓMICAS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

JAQUELINE ARMENTA GALICIA

Ciudad de México, 2017





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Elsa Flores Marroquín.

VOCAL: José Mojica Reyes.

SECRETARIO: Oscar Ricardo Pérez Durán.

1er. SUPLENTE: David Bravo Leal.

2° SUPLENTE: Alejandro Gutiérrez Sánchez.

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: INTERNATIONAL FARMACÉUTICA, S.A.
DE C.V.**

ASESOR DEL TEMA:

Oscar Ricardo Perez Duran.

SUSTENTANTE (S):

Jaqueline Armenta Galicia.

ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de varianza
ASTM	Sociedad Americana de Pruebas de Materiales
CG	Cromatografía de gases
cps	Control previo sanitario
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
°C	Grados centígrados
CV	Coeficiente de variación
D.E.	Desviación estándar
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
G	Gramos
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta eficacia
ICH	Conferencia Internacional Tripartita sobre Armonización
ISO	Organización Internacional de Normalización
Kg F/mm ²	Kilogramos fuerza entre milímetros cuadrados
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de determinación
LGS	Ley General de la Salud
L _i	Límite de inferior
L _s	Límite de superior
mg	Miligramos
mL	Mililitros
% m/v	Porcentaje masa volumen
N	Normalidad
NOM/NOM's	Normas Oficiales Mexicanas
r ²	Coeficiente de correlación al cuadrado
SR1	Solución reactivo
SV	Solución valorada
USP	Farmacopea de los Estados Unidos
UV-vis	Ultravioleta- visible

X Eje horizontal es el eje de las abscisas de un plano cartesiano

Y Eje vertical es el eje de las ordenadas de un plano cartesiano

DEFINICIONES

Adecuabilidad: Verificación de que el sistema (instrumento, analista, equipo, sustancia de referencia, entre otros) opera con base a criterios preestablecidos, que permitan asegurar la confiabilidad de los resultados de un método analítico.

Analito: Componente específico de una muestra, a medir en un análisis.

Blanco: Muestra analítica que contiene todos los reactivos y disolventes usados en el análisis, pero sin el analito. Mide la respuesta del método analítico a las impurezas o interferencias que existan en los reactivos.

Cambio mayor: Son las modificaciones que pueden tener un impacto negativo mayor en la calidad, seguridad o eficacia en el producto; incluyen cambios en sistemas críticos, modificaciones a las líneas de fabricación, modificaciones en las instalaciones que impacten la calidad de los productos, inclusión de nuevas moléculas que ameriten nueva validación de limpieza.

Cambio menor: Es aquella modificación que puede tener un impacto negativo menor o ninguno, en la calidad, seguridad o eficacia en el producto; incluye cambios de composición del producto en proceso o terminado, materias primas, proceso de fabricación, sistema contenido- cierre, instalaciones o equipo.

Calibración: Conjunto de operaciones que determinan, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.

Calificación: Es la acción de probar y documentar que cualquier equipo analítico cumpla con el diseño, instalación, operación y desempeño funcionen adecuadamente para su uso establecido.

Concentración: La concentración de una solución es la proporción o relación que hay entre la cantidad de soluto y la cantidad de disolución o de disolvente, donde el soluto es la sustancia que se disuelve, el disolvente es la sustancia que disuelve

al soluto, y la disolución es el resultado de la mezcla homogénea de las dos anteriores.

Coefficiente de correlación: Una gráfica en donde son representados dos observaciones como puntos en un plano cartesiano (X, Y). Estas observaciones se grafican en la variable X la concentración o cantidad del analito y la variable Y representa el resultado de un método analítico. Al realizar una recta de regresión que pasa lo más cerca de las observaciones, para indicar si pasa muy cerca o no de estas observaciones se realiza una ecuación matemática que en términos del ajuste de la recta representa el grado de asociación o relación entre ambas variables, a este cálculo se le denomina el coeficiente de correlación. El coeficiente de correlación, que se simboliza con la letra minúscula r, se calcula dividiendo la suma de los productos de las desviaciones de cada variante de X e Y, con respecto a sus medias (suma que se denomina covarianza de X e Y), por el producto de las desviaciones estándar de ambas variables.

$$r^2 = \frac{(n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y))^2}{(n(\sum x^2) - (\sum x)^2)(n(\sum y^2) - (\sum y)^2)}$$

n= número de datos obtenidos con el método analítico.

r^2 = coeficiente de correlación al cuadrado.

$\sum xy$ = la sumatoria de la mutiplicación de los puntos de la grafica de las variables X e Y.

$\sum x$ = la sumatoria de los puntos de la grafica de la variable X.

$\sum y$ = la sumatoria de los puntos de la grafica de la variable Y.

$\sum x^2$ = la sumatoria de los puntos de la grafica de la variable X al cuadrado.

$\sum y^2$ = la sumatoria de los puntos de la grafica de la variables Y al cuadrado.

Coefficiente de variación: Al cuadrado de la desviación estándar se le denomina varianza. A partir de la desviación estándar se puede determinar el coeficiente de variación, que es una medida del error relativo y se usa para comparar resultados medidos.

Criterios de aceptación: Parámetros bajo los cuales el resultado de una prueba será considerado aceptable.

Curva de calibración: Una curva de calibración es la representación gráfica de una señal que se mide en función de la concentración de un analito. La calibración incluye la selección de un modelo para estimar los parámetros que permitan determinar la linealidad de esa curva, y en consecuencia, la capacidad de un método analítico para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración de un compuesto en una muestra, dentro de un determinado intervalo de trabajo. En el procedimiento se compara una propiedad del analito con la de estándares de concentración conocida del mismo analito (o de algún otro con propiedades muy similares a éste).

Desviación estándar: Es un parámetro estadístico que da cuenta de la dispersión de los datos obtenidos de la medición de un analito.

Dispositivos médicos: Sustancia, mezcla de sustancias, material, aparato o instrumento (incluyendo el programa de informática necesario para su apropiado uso o aplicación), empleado solo o en combinación en el diagnóstico, monitoreo o prevención de enfermedades en humanos o auxiliares en el tratamiento de las mismas y de la discapacidad, así como los empleados en el reemplazo corrección, restauración o modificación de la anatomía o procesos fisiológicos humanos.

Error sistemático: Se denomina error sistemático a aquel que es constante a lo largo de todo el proceso de medida y, por tanto, afecta a todas las medidas de un modo definido y es el mismo para todas ellas. Estos errores tienen siempre un signo determinado y las causas probables pueden ser:

- Errores instrumentales (de aparatos); por ejemplo, el error de calibrado de los instrumentos.
- Error personal: Este es, en general, difícil de determinar y es debido a las limitaciones de carácter personal. Como, por ejemplo, los errores de paralaje, o los problemas de tipo visual.
- Errores de método de medida, que corresponden a una elección inadecuada del método de medida; lo que incluye tres posibilidades distintas: la inadecuación

del aparato de medida, del observador o del método de medida propiamente dicho.

Especificidad: Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.

Exactitud: Es la concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.

Incertidumbre: Es la medición asociados con los resultados que están caracterizados a la dispersión de la media de los valores.

Intervalo de confianza: El intervalo de confianza describe la variabilidad entre la medida obtenida en un estudio y la medida real de la población (el valor real). Corresponde a un rango de valores, cuya distribución es normal y en el cual se encuentra, con alta probabilidad, el valor real de una determinada variable. Esta «alta probabilidad» se ha establecido por consenso en 95%. Así, un intervalo de confianza de 95% nos indica que dentro del rango dado se encuentra el valor real de un parámetro con 95% de certeza.

Intervalo lineal: Intervalo, desde el límite de detección, hasta la máxima concentración en que la respuesta del método se comporta linealmente.

Intervalo de trabajo: El intervalo que se utilizara en el trabajo rutinario, las muestras estarán dentro de los límites de este y debe ser menor al intervalo lineal. Se estudian muestras enriquecidas con un estándar puro del analito de interés y se demuestra que la cantidad adicionada y la cantidad medida son las mismas en todo el intervalo de trabajo.

Límite de cuantificación: Es la cantidad mínima de analito, que puede ser determinada con la precisión y exactitud aceptables, bajo las condiciones de operación establecidas por el método analítico.

Límite de determinación: Es la cantidad mínima de analito en una muestra que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas por el método analítico.

Linealidad: Es la capacidad de un método analítico para dar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito.

Linealidad del sistema: Es la verificación de que la respuesta analítica y la concentración del analito (puede ser una sustancia de referencia) se ajustan al modelo matemático, en un intervalo de concentraciones pertinentes a la aplicación analítica.

Materia Prima: La materia prima es cada una de las materias que empleará la industria para la conversión de productos elaborados.

Matrices analítica: Todos los componentes de la muestra que no son analitos.

Método analítico: Secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.

Muestra: Proporción del material a evaluar.

Muestra adicionada o fortificada: Porción representativa del material a evaluar, a la que se le adicionan cantidades conocidas del analito de interés.

Normalidad: Es una medida de concentración que se define como el número de equivalentes de soluto por litro de solución.

Ordenada al origen: Es el punto en donde se une la línea de la regresión lineal con el eje de las Y del plano cartesiano de una gráfica.

Parámetros de desempeño: Parámetro específico a estudiar en un protocolo de validación.

Pendiente: La pendiente de una recta es la tangente del ángulo que forma la recta de la regresión lineal con la dirección positiva del eje de abscisas (X).

Placebo: Es la sustancia inerte usada como medicamento supuesto o sustancia con actividad farmacológica.

Plan de validación: Documento que especifica la información referente a las actividades de validación que realizará el establecimiento, donde se definen detalles y escalas de tiempo para cada trabajo de validación a realizar. Las responsabilidades relacionadas con dicho plan deben ser establecidas.

Porcentaje de recobro (%Recobro): La recuperación o recobro es la cantidad del analito recuperada en la porción de muestra o muestra adicionada cuando esta es conducida a través del método analítico completo, y que permite evaluar la eficiencia de la extracción, proceso de preparación e interferencias que puedan existir al aplicarlo. Se expresa en términos de porcentaje.

Precisión: Es la concordancia entre resultados analítico individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto o de una referencia.

Precisión intermedia: Se expresada como la concordancia relativa obtenida entre la determinación independiente de un método analítico realizadas en un mismo laboratorio, por diferentes analistas, en distintos días.

Protocolo de validación: Es el documento que contiene los objetivos, el procedimiento de método, los requisitos y los criterios de aceptación establecidos, para realizar la validación.

Protocolo de verificación: Es el documento que contiene los objetivos, el procedimiento de método, los requisitos y los criterios de aceptación establecidos, para realizar la verificación.

Registro sanitario: Es una autorización sanitaria, con la cual deberán contar los medicamentos, estupefacientes, sustancias psicotrópicas y productos que los

contengan; equipos médicos, prótesis, órtesis, ayudas funcionales, agentes de diagnóstico, insumos de uso odontológico, materiales quirúrgicos, de curación y productos higiénicos para su producción y salida del mercado.

Repetibilidad: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista y usando los mismos instrumentos.

Reproducibilidad: Es la precisión de los resultados analíticos, que se obtienen con el mismo método de análisis bajo condiciones diferentes, ya sea: diferentes laboratorios, operadores, usando distintos equipos, entre otros.

Robustez: Capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales del método.

Sesgo: Se usa en el sentido de exactitud de un promedio a largo plazo (valor esperado) de una serie de promedios. Es la diferencia en el valor esperado (teóricamente igual al promedio de un número infinito de valores individuales independientes) del valor verdadero, correcto o asumido.

Sustancia de referencia: Sustancia de uniformidad reconocida destinada para utilizarse en comprobaciones analíticas físicas, químicas o microbiológicas en el transcurso de las cuales sus propiedades se comparan con las de la sustancia en examen. Las sustancias de referencia, poseen un grado de pureza correspondiente al empleo al cual se destinan.

- **Sustancia de referencia primaria:** Sustancia que es designada o reconocida por tener la más alta calidad metrológica, cuyas propiedades se aceptan sin referencia a otras sustancias.
- **Sustancia de referencia secundaria:** Sustancia cuyas propiedades se asignan por comparación con un sustancia de referencia primaria o bien cuando es certificada mediante un procedimiento científicamente reconocido.

Tolerancia: Reproducibilidad de los datos analíticos obtenidos, por el análisis de la misma muestra bajo diferentes condiciones normales como: diferentes laboratorios, analistas, instrumentos, lotes de reactivos, días, etc.

Validación: Confirmación que se da por la recopilación y análisis de la evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para el uso específico propuesto.

Validación de un método analítico: Procedimiento para establecer por medio de estudios en un laboratorio una base de datos que demuestren científicamente que un método analítico no establecido tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas.

Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales.

Valoración: La valoración o titulación es un método de análisis químico cuantitativo en el laboratorio que se utiliza para determinar la concentración desconocida de un reactivo a partir de un reactivo con concentración conocida.

Verificación: Es la confirmación experimental de que un método establecido funciona de acuerdo con las especificaciones, en las condiciones disponibles en el laboratorio usuario.

INDÍCE

Tabla de contenidos	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Marco regulatorio	2
2.1.1 Suplemento de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos para dispositivos médicos	3
2.1.2 Normas Oficiales Mexicanas que existen para dispositivos médicos	4
2.1.2.1 NOM 137-SSA1-2008. Etiquetado de dispositivos médicos	
2.1.2.2 NOM 241-SSA1-2012. Buenas Practicas de Fabricación de los dispositivos médicos	4
2.1.2.3 NOM 240-SSA1-2012. Instalación y operación de Tecnovigilancia	4
2.1.3 Ley General de Salud	
2.1.4 Guías internacionales y nacionales para realizar la validación de métodos analíticos	5
2.1.4.1 ICH (Conferencia Internacional Tripartita sobre Armonización) Validación de proceso analítico Q2 (R1) 2005	6
2.1.4.2 La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados, segunda edición Inglesa, primera edición Española, Eurachem	7
2.1.4.3 Guía de validación de métodos analíticos. Colegio nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C., Edición 2002	7
2.2 Validación y Verificación de los Métodos Analíticos	8
2.2.1 Clasificación de los Métodos Analíticos	9
2.2.2 Categorías para realizar una Validación interna o Verificación	9
2.2.3 Validación Retrospectiva y Validación Prospectiva	16
2.2.4 Plan de validación	16
2.2.5 Mantenimiento del Estado Validado	17
2.2.6 Características de una Verificación	18
2.2.7 Protocolo de verificación	18
2.2.8 Informe de verificación	19

2.3	Suturas quirúrgicas	22
2.3.1	Propiedades de absorción	22
2.3.2	Número de hebras	24
2.3.3	Fuerza tensil	24
2.3.4	Selección de suturas	25
2.3.5	Acabado de la sutura	26
2.3.6	Acabado de las agujas	26
2.3.7	Forma de la aguja	27
2.3.8	Sutura de catgut crómico	28
2.3.9	Presentación de las suturas de catgut crómicas	29
2.3.10	Acciones de las suturas de catgut crómicas	29
2.3.11	Contraindicaciones de las suturas de catgut crómicas	30
2.3.12	Precauciones de las suturas de catgut crómicas	30
2.3.13	Reacciones adversas de las suturas de catgut crómicas	30
3.	OBJETIVOS	32
3.1	Objetivo general	32
3.2	Objetivos específicos	32
4.	HIPÓTESIS	32
5.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	33
5.1	Fundamento del método analítico	33
5.2	Reactivos	35
5.3	Equipos	36
5.3	Muestras	36
5.4	Procedimiento de la verificación	37
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
6.1	Datos experimentales	39
6.2	Reproducibilidad	40
6.3	Repetibilidad	43
6.4	Incertidumbre	44
7.	CONCLUSIONES	48
8.	BIBLIOGRAFÍA	49

1. INTRODUCCIÓN

Durante la última década, los dispositivos médicos en México han presentado un desarrollo dinámico y sostenido, a partir del incremento en manufactura por parte del sector empresarial debido al crecimiento de la población y sus necesidades con respecto a la salud. Es por ello que la regulación sanitaria de dispositivos médicos ha cobrado mucha relevancia en estos últimos años, en donde se homologaron criterios y normativas internacionales para lograr un proceso estable y consistente en la emisión de registros sanitarios.

En 2016 en México salió a la venta el Suplemento de dispositivos médicos tercera edición que forma parte de la Farmacopea de los Estados Unidos de Mexicanos. Los métodos analíticos que se encuentran en este suplemento son utilizados para evaluar la calidad de los dispositivos médicos y para saber si están sujetos a varios requisitos de acuerdo con las normas vigentes nacionales e internacionales.

Dentro de la clasificación de los dispositivos médicos se encuentran las suturas quirúrgicas. Esta tesis hace referencia a la sutura catgut crómico en particular, que puede presentar riesgo a la salud para personas alérgicas al colágeno o al cromo, aquí recae la importancia de determinar el cromo total en estas suturas. El Suplemento de la FEUM, propone un método analítico para esta determinación, en donde el criterio de aceptación que las suturas de catgut crómico debe tener un contenido de cromo de 0.2 % a 0.7 %.

Los métodos analíticos de la FEUM no requieren de una validación, si no únicamente verificar su aplicabilidad al producto, bajo las condiciones de operación del laboratorio y en función del propósito analítico deseado.

2. ANTECEDENTES

2.1 Marco regulatorio

Un dispositivo médico se define como *“Sustancia, mezcla de sustancias, material, aparato o instrumento (incluyendo el programa de informática necesario para su apropiado uso o aplicación), empleado solo o en combinación en el diagnóstico, monitoreo o prevención de enfermedades en humanos o auxiliares en el tratamiento de las mismas y de la discapacidad, así como los empleados en el reemplazo corrección, restauración o modificación de la anatomía o procesos fisiológicos humanos”*.^[3]

Los dispositivos médicos de acuerdo con la FEUM se clasifican en 6 categorías de acuerdo a su función y uso:

- I. Equipo médico.
- II. Prótesis, órtesis y ayudas funcionales.
- III. Agentes de diagnóstico.
- IV. Insumos de uso odontológico
- V. Materiales quirúrgicos y de curación.
- VI. Productos higiénicos.

La Ley General de Salud (LGS) se encarga en explicado que es un dispositivo médico y otorgarle su clasificación dentro de ámbito médico; mientras que la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios conocida por las siglas COFEPRIS es quien se encarga de controlar la regulación y vigilancia sanitaria de los Insumos para la salud en México.

Las auditorias que realiza COFEPRIS sirven para vigilar y controlar la fabricación y distribución de los dispositivos médicos, además de garantizar que cumplan con las Buenas Prácticas de Laboratorio. Uno de los puntos importantes que se revisa en las auditorias es la validación de métodos analíticos y que estos cumplan con las normas nacionales de dispositivos médicos.

2.1.1 Suplemento de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos para dispositivos médicos

El artículo 2, fracción IX, la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos se define como al documento expedido por la Secretaría de Salud que consigna los métodos generales de análisis y los requisitos sobre identidad, pureza y calidad de los fármacos, aditivos, medicamentos, productos biológicos y demás insumos para la salud.

El artículo 8, del reglamento de insumos para la salud indica que: La Secretaría fijará las características que deberá reunir para ser considerado como medicamento u otro Insumo en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos o en las normas correspondientes.

Es en 2006 cuando se publica por primera vez el Suplemento para Dispositivos Médicos que es un complemento dentro de la FEUM, con esta publicación México se sitúa con una de las Farmacopeas más completas a nivel mundial, que abarcando controles de calidad para los medicamentos alopáticos, homeopáticos, herbolarios, dispositivos médicos y controles de calidad para la industria farmacéutica.

El suplemento para dispositivos médicos es una pieza fundamental de nuestra regulación sanitaria ya que en ella se establecen las especificaciones que deben cumplir los dispositivos médicos para que tengan calidad y nivel de funcionamiento óptimo, así como los métodos de análisis. El cumplimiento de estos métodos, son la garantía de la calidad, seguridad y eficacia de los insumos para la salud.

2.1.2 Normas Oficiales Mexicanas que existen para Dispositivos Médicos:

2.1.2.1 NOM-137-SSA1-2008. Etiquetado de dispositivos médicos.

En esta norma se establece los requisitos mínimos que sirven para comunicar la información a los usuarios, que deberá contener el etiquetado de los dispositivos médicos de origen nacional o extranjero que se comercialicen o destinen a usuarios en el territorio nacional. Su alcance es para todos los establecimientos dedicados a la fabricación, acondicionamiento, importación y distribución de dispositivos médicos.

2.1.2.2 NOM-241-SSA1-2012. Buenas Prácticas de Fabricación para Dispositivos Médicos.

Esta norma establece los requisitos que debe reunir los procesos, desde el diseño de las instalaciones, desarrollo, obtención, preparación, mezclado, producción, ensamblado, envasado, acondicionamiento, estabilidad, análisis, control, almacenamiento y distribución de los dispositivos médicos comercializados en el país, por el tipo de insumo que se trate; y tiene por objetivo asegurar que se cumplan con los requisitos de calidad y funcionalidad para ser usados por el consumidor final o paciente.

2.1.2.3 NOM-240-SSA1-2012. Instalación y operación de la tecnovigilancia.

La tecnovigilancia garantiza que los dispositivos médicos que se encuentran disponibles en el mercado funcionen de la manera indicada conforme a la intención de uso de fabricante y en caso de lo contrario se tomen las acciones correspondiente para corregir y/o disminuir la probabilidad de recurrencia de los incidentes adversos, con lo cual se busca mejorar la protección de la salud y seguridad de los usuarios de los dispositivos médicos.

2.1.3 Ley General de Salud

Los artículos 82, 83, 84, 85 y 87 de la Ley General de Salud establecen los requisitos básicos necesarios para poder regular dispositivos médicos en México. En seguida se enlistan los contenidos de dichos artículos:

ARTÍCULO 82. Los equipos médicos, prótesis, órtesis, ayudas funcionales, agentes de diagnóstico, Insumos de uso odontológico, material quirúrgico, de curación, productos higiénicos y otros dispositivos de uso médico, requieren para su producción, venta y distribución de registro sanitario.

Los establecimientos en los que se realice el proceso de los Insumos que se mencionan en el párrafo anterior deberán presentar aviso de funcionamiento, con excepción de los dedicados al proceso de fuentes de radiación de uso médico, que requieren de licencia expedida en forma coordinada con la Comisión Nacional de Seguridad Nuclear y Salvaguardias.

ARTÍCULO 83. La Secretaría clasificará para efectos de registro a los Insumos señalados en el artículo anterior, de acuerdo con el riesgo que implica su uso, de la manera siguiente:

- **CLASE I.** Aquellos insumos conocidos en la práctica médica y que su seguridad y eficacia están comprobadas y, generalmente, no se introducen al organismo;
- **CLASE II.** Aquellos insumos conocidos en la práctica médica y que pueden tener variaciones en el material con el que están elaborados o en su concentración y, generalmente, se introducen al organismo permaneciendo menos de treinta días, y
- **CLASE III.** Aquellos insumos nuevos o recientemente aceptados en la práctica médica, o bien que se introducen al organismo y permanecen en él, por más de treinta días.

ARTÍCULO 84. Los modelos nuevos de los insumos para la salud a que se refiere este Capítulo, de una misma línea de producción y fabricante, si tienen avances tecnológicos, requerirán de nuevo registro de la Secretaría.

ARTÍCULO 85. Cuando se requiera, según su naturaleza, verificar la estabilidad de los Insumos a que se refiere el artículo anterior, deberá cumplirse con la Norma correspondiente para estos productos.

ARTÍCULO 87. Los catálogos de los insumos a que se refiere este capítulo, así como la información promocional contenida en las revistas médicas o impresos dirigidos a profesionales de la salud, son medios de difusión médica y la empresa responsable de las publicaciones mencionadas deberá dar el aviso correspondiente a la Secretaría.

2.1.4 Guías internacionales y nacionales para realizar la validación de los métodos analíticos

La validación de los métodos analíticos debe cumplir con los requisitos establecidos en las siguientes guías:

2.1.4.1 ICH (Conferencia Internacional Tripartita sobre Armonización) Validación de proceso analítico Q2 (R1) 2005

Este es un texto que sirve como una recopilación de condiciones y definiciones que se utilizan durante una validación de métodos analíticos. Esta reúne y sintetiza las condiciones que se regulan en la Unión Europea, Japón y Estados Unidos.

Los métodos analíticos que se pueden validar utilizando esta guía son los siguientes:

- Pruebas de identificación.
- Pruebas cuantitativas de contenido de impurezas.
- Pruebas límite del control de impurezas.

- Pruebas cuantitativas del principio activo en muestras de sustancias de fármacos o productos farmacéuticos u otros componentes seleccionados en el producto farmacéutico.
- Pruebas de disolución de productos farmacéuticos.
- La determinación del tamaño de partícula de una sustancia farmacéutica.

2.1.4.2 La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados, segunda edición Inglesa, primera edición Española, Eurachem.

En este texto su principal objetivo es la revisión de los avances y cambios de las guías internacionales en los últimos 15 años sobre el área de validación de métodos. Se menciona también las definiciones de conceptos que se utilizan para validar los métodos y sugiere en qué casos se pueden utilizar los parámetros estadísticos.

2.1.4.3 Guía de validación de métodos analíticos. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C., Edición 2002

Es una guía que define los parámetros de desempeño mínimos para realizar la validación de métodos no farmacopeicos que pide la Secretaría de Salud. Estos parámetros le proporciona a quien aplica la metodología, una seguridad de la confiabilidad de dichos métodos y puede tomar la decisión final con certeza.

2.2 Validación y Verificación de los Métodos Analíticos

La validación es tener la certeza o garantía de que un método analítico nuevo o no normalizado funcione para cuantificar un analito de interés o determinar alguna propiedad fisicoquímica específica del producto o servicio que se realiza en un laboratorio, mediante pruebas analíticas y debe contar con características de desempeño satisfactorias para su aplicación analítica. Implica la demostración de la determinación de las fuentes de variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales.

La verificación consiste en la confirmación experimental de que un método establecido por una validación, para saber si funciona de acuerdo con las especificaciones de la matriz en las condiciones disponibles del laboratorio usuario.

Un laboratorio puede adoptar un procedimiento validado que, por ejemplo, ha sido publicado como una norma y emplearlo para una aplicación específica a partir de un desarrollo comercial. Pero el laboratorio debe confirmar su capacidad para aplicar el método, esto es la **verificación**.

Todos los métodos analíticos nuevos que se introduzcan en un laboratorio deben estar documentados y todos los analistas deben ser competentes antes de empezar el análisis. Si un método se modifica o se aplica en una situación nueva (por ejemplo, una muestra de matriz nueva) se necesitará una validación o verificación, según el alcance y dimensión de la modificación (un cambio mayor). No se necesitará adoptar ninguna medida si la modificación es sólo pequeña (un cambio menor); por ejemplo, si se sustituye una columna cromatográfica por otra del mismo tipo.

2.2.1 Clasificación de los métodos analíticos

Existe dos tipos de métodos para validar y de ello depende la manera en que se va a proseguir la validación:

- **Método normalizado.** Proceso de medición robusto donde pequeñas variaciones en procedimiento no deben producir de forma imprevista grandes variaciones en los resultados. Se consideran métodos normalizados a aquellos métodos publicados como primera instancia en: Normas Oficiales Mexicanas, Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Normas Mexicanas, Métodos oficiales del AOAC, Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP), Farmacopea Británica (BP), American Society for Testing Materials (ASTM), Internacional Standard Organization (ISO). Es necesario **verificar** la adecuación del método para fines previstos por el laboratorio.
- **Método no normalizado.** Métodos desarrollados por el laboratorio, métodos obtenidos en publicaciones científicas y métodos normalizados modificados, ampliados o usados fuera de su alcance. En estos métodos es en donde aplica una **validación** en donde es necesario demostrar que el método ofrece resultados confiables y reproducibles.

2.2.2 Categorías para realizar una validación o verificación

En la **tabla 1** se clasifican en categorías los métodos analíticos para saber cómo se va a realizar la *validación* o *verificación* con respecto a la **tabla 2** que aparece a continuación de éste documento.

Tabla 1. Categorías para validación o verificación del método. FEUM, 11° Edición, Tomo II, página 2790.

Categoría	Propósito	Tipo de prueba
I	Métodos analíticos (constituyen pruebas químicas o biológicas) cuantitativas específicas del contenido del analito de interés de una muestra determinada	Valoración, ensayo/potencia, conservadores o adyuvantes.
II	Método analítico para la determinación del contenido de impurezas o de valores límite para el control de impurezas. Estas pruebas pueden ser cuantitativas o cualitativas para determinar si la impureza está presente en la muestra.	Impurezas, productos de degradación.
III	Prueba fisicoquímica del desempeño. Constituye en procedimientos de ensayo que mide características propias de desempeño del medicamento.	Disolución.
IV	Pruebas de identificación. Aquellas que se realizan para asegurar la identidad de un analito en una muestra. Esto generalmente se realiza para comparar una propiedad de una muestra.	Gravimétricos, volumétricos y espectroscópicos.

Pudiera presentarse casos de métodos analíticos que no clasifican en ninguna de estas categorías, por lo que le usuario debe establecer con claridad el propósito analítico.

En términos del estudio de laboratorio, los requisitos mínimos de los parámetros de desempeño, deben documentarse en un protocolo, ejecutarse y, al término de esté, elaborar un informe donde se establezca su validez.

A continuación se establecen los lineamientos generales para cada característica de desempeño y en los casos que se pueden utilizar son los siguientes:

Tabla 2. Parámetros de desempeño para realizar la validación y verificación de los métodos analíticos.

Parámetro de desempeño	VALIDACIÓN				VERIFICACIÓN			
	Categoría I	Categoría II	Categoría III	Categoría IV	Categoría I	Categoría II	Categoría III	Categoría IV
Intervalo lineal	SI	SI	NO	NO	SI	SI	NO	NO
Intervalo de trabajo	SI	SI	NO	NO	SI	SI	NO	NO
Límite de detección	NO	NO	SI	NO	NO	SI	NO	NO
Límite de cuantificación	NO	SI	NO	NO	NO	SI	NO	NO
Recuperación	SI	SI	NO	NO	SI	SI	NO	NO
Repetibilidad	SI	SI	NO	SI	SI	SI	NO	SI
Precisión intermedia	SI	SI	NO	SI	SI	SI	NO	SI
Sesgo	SI	SI	NO	NO	-	-	-	-
Selectividad	SI	SI	SI	NO	NO	NO	SI	NO
Sensibilidad	SI	SI	NO	NO	-	-	-	-
Robustez	SI	SI	NO	SI	-	-	-	-
Incertidumbre	-	-	-	-	SI	SI	NO	SI

Los conceptos y los criterios de aceptación de los parámetros para realizar la validación o verificación de los métodos fisicoquímicos se representa en la siguientes tablas (**tabla 3 y tabla 4**), que fueron obtenidos de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 11° Edición; Tomo II, páginas 2790 a la 2796 y la Guía de validación de métodos analíticos, Editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biológicos A.C., Edición 2002, páginas 20 a la 50; con excepción del parámetro de incertidumbre que se obtuvo de los documentos de los laboratorios de la Comisión de Control de Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAyAC).

Tabla 3. Evaluación de los parámetros de desempeño para métodos fisicoquímicos.

Parámetros	Determinación
Intervalo lineal	<ul style="list-style-type: none"> • Blancos de muestra (matriz) o muestras adicionada mín. 5 niveles diferentes de concentración. Cada nivel por triplicado. • Graficar respuesta analítica (y) vs nivel de concentración (x). Calcular el intervalo de confianza del intercepto.
Intervalo de trabajo	<ul style="list-style-type: none"> • Utiliza los datos obtenidos en la estimación del intervalo lineal. • Graficar la concentración obtenida (y) vs la concentración adicionada (X). • Considerar los niveles que cumplen con los criterios de recuperación y repetibilidad establecidos. Calcular la pendiente (m) y el coeficiente de correlación (r²). Reportar el intervalo de concentraciones obtenidas en las unidades establecidas por el método.
Límite de detección (pruebas cualitativas)	<p>a) LD para métodos no instrumentales: Se puede determinar empleando una regresión lineal de una gráfica concentración (X) y respuesta (Y), con al menos 3 niveles de concentración por triplicado. Lo que permitirá calcular la pendiente, la desviación estándar de la regresión o la desviación estándar de la ordenada al origen. También realizarla medición de 5 blancos para calcular la desviación estándar de la respuesta.</p> $LD = \frac{3.3 * sb_0}{m}$ <p>Dónde: LD= Límite de detección. sb₀= Desviación estándar de la regresión analítica m = pendiente</p> <p>b) LD para métodos instrumentales: Se puede determinar empleando el procedimiento basado en “la señal-ruido” del instrumento. En el procedimiento de la linealidad, es necesario generar una relación de una gráfica concentración (X) y respuesta (Y), con al menos 3 niveles de concentración por triplicado. Lo que permitirá calcular la pendiente, la desviación estándar de la regresión o la desviación estándar de la ordenada al origen. También realizarla medición de 5 blancos para calcular la desviación estándar de la respuesta. Por el procedimiento de la señal-ruido, el LD es la concentración cuya respuesta analítica es la inmediatamente superior a 3 veces la señal-ruido. Es importante establecer la linealidad del gráfico.</p> $LD = \frac{3.3 * sb_0}{m}$ <p>Dónde: LD= Límite de detección. sb₀= Desviación estándar de la regresión analítica m = pendiente</p>

Parámetros	Determinación
Límite cuantificación	<p>a) LC para métodos no instrumentales: Es necesario generar una relación de concentración adicionada vs la respuesta analítica, lo que permitirá investigar la linealidad, estimar la pendiente (m) y la desviación estándar de la ordenada de origen (sb₀). También una medida de la desviación estándar de la respuesta analítica de al menos 5 blancos.</p> $LC = \frac{10 * sb_0}{m}$ <p>Dónde: LC= Límite de cuantificación. sb₀= Desviación estándar de la regresión analítica m = pendiente</p> <p>b) LC para métodos instrumentales: Se puede determinar empleando el procedimiento basado en “la señal-ruido” del instrumento o la linealidad. En el primero, se evalúa obteniendo las respuestas analíticas de muestras de concentración conocida del analito y estableciendo la respuesta de una concentración de cero analito (blanco o matriz sin el analito) a la que comúnmente se le llama señal ruido. En el segundo procedimiento de linealidad, es necesario generar una relación de una gráfica concentración (X) y respuesta (Y), con al menos 3 niveles de concentración por triplicado, lo que permitirá calcular la pendiente (m), la desviación estándar de la regresión o la desviación estándar de la ordenada al origen (sb₀). También realizarla medición de 5 blancos para calcular la desviación estándar de la respuesta. Por el procedimiento de la señal-ruido, el LC es la concentración cuya respuesta analítica es la inmediatamente superior a 10 veces la señal-ruido. Es importante establecer la linealidad del gráfico.</p> $LC = \frac{10 * sb_0}{m}$ <p>Dónde: LC= Límite de cuantificación. sb₀= Desviación estándar de la regresión analítica m = pendiente</p>
Recuperación y sesgo	<ul style="list-style-type: none"> • Para determinar el sesgo puede utilizarse sustancias de referencia, muestras fortificadas, muestras control, con el fin de medir el analito de concentración conocida y determinar la diferencia entre el valor conocido y la medida del valor obtenido. • Determinar el intervalo de confianza de la recuperación. • Reportar el intervalo de confianza de % de recobro.
Especificidad/ Selectividad	<ul style="list-style-type: none"> • Para determinar la especificidad, se debe demostrar que la respuesta analítica se debe únicamente al analito. • Para el caso de selectividad se debe determinar la respuesta a un compuesto como: aditivos, sustancias auxiliares, sustancias relacionadas al fármaco o cualquier interacción con componentes estructurales al analito. • Para el caso de selectividad se debe determinar la respuesta a componentes como: sustancias de degradación del fármaco originado por la influencia de las condiciones de almacenamiento o condiciones extremas.

Parámetros	Determinación
Reproducibilidad intralaboratorio (precisión intermedia)	<ul style="list-style-type: none"> • La precisión intermedia de un método analítico se determina por el análisis de por lo menos 3 alicotas (muestras analíticas indicadas por el método), tomadas de la muestra homogénea, para ser analizados en diferentes días (mínimo 2) y por diferentes analistas (mínimo 2). • Se evalúa por medio del coeficiente de variación de todos los datos analíticos. • Efectuar un análisis de ANOVA de dos factores. Verificar la significancia estadística.
Exactitud y Repetibilidad del método	<p>a) Se conoce los componentes de la muestra y es posible preparar un placebo analítico: Un analista debe preparar el placebo analítico con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra. A la cantidad de placebo analítico debe ser equivalente a una muestra analítica por sextuplicado, adicionarle la cantidad de analito (puede ser una sustancia de referencia secundaria) corresponde al 100% de éste analito en la muestra. Los placebos adicionados deben ser analizados por un analista bajo las mismas condiciones, utilizando como referencia la sustancia utilizada a la adición al placebo analítico. Determinar la cantidad recuperada del analito.</p> <p>b) No se conocen los componentes de las muestras: Un analista la debe analizar la muestra con el método, para determinar el contenido del analito. El mismo analista debe preparar por lo menos 6 muestras adicionadas del analito por ejemplo, utilizando la mitad de la muestra analítica que originalmente requiere el método y adicionar el analito (puede ser una sustancia de referencia secundaria) hasta completar lo que represente el 100% de este en la muestra. Las muestras adicionadas deben ser analizadas por un mismo analista bajo las mismas condiciones utilizando como referencia la sustancia empleada en la adición de la muestra. Determinar la cantidad recuperada del analito</p>
Robustez	<p>Se deberá establecer aquellos factores instrumentales (temperatura de la columna, presión de la columna, velocidad de flujo, etc.) y/o factores no instrumentales (pH en fases, volúmenes de solventes orgánicos para extracción, etc.), que se consideran como críticos. Para su investigación se puede presentar los siguiente casos:</p> <p>a) Investigar 3 factores como máximo: En estos casos se establece un nivel inferior y uno superior respecto al nivel normal de operación, por ejemplo si el nivel de pH de la fase móvil es de 5 en condiciones normales, el nivel superior puede ser 5.2 y el inferior 4.8, los cuales son cambios pequeños pero deliberados. Por lo que es necesario evaluar por triplicado una misma muestra en cada nivel, incluyendo el nivel normal. Esto debe ser aplicado para cada uno de los factores a investigar.</p> $\frac{\bar{Y}_I - \bar{Y}_N}{\bar{Y}_N} * 100 \qquad \frac{\bar{Y}_S - \bar{Y}_N}{\bar{Y}_N} * 100$ <p>Dónde: \bar{Y}_S = Media aritmética del nivel superior \bar{Y}_N = Media aritmética del nivel normal \bar{Y}_I = Media aritmética del nivel inferior</p> <p>b) Investigar de cuatro a siete factores: Se debe utilizar un diseño factorial fraccionado (2ⁿ).</p>

Tabla 4. Criterios de aceptación en los parámetros de desempeño de la validación.

PARAMETRO	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN		
Intervalo lineal	<ul style="list-style-type: none"> • Comportamiento lineal en la gráfica de concentración vs respuesta analítica. • Datos aleatorios en el gráfico de residuales. • El intervalo de confianza del intercepto debe incluir el cero. 		
Intervalo de trabajo	Coeficiente de correlación al cuadrado de residuos e impurezas: $r^2 = 0.98$ Coeficiente de correlación al cuadrado de contenido o ingrediente activo: $r^2 = 0.99$		
Límite de detección (pruebas cualitativas)	<ul style="list-style-type: none"> • LD con base en la señal de ruido: El LD debe ser menor a la especificación de la prueba de impurezas límite. • LD con base en curva de calibración y D.E. de los blancos: $r^2 \geq 0.98$, intervalo de confianza no debe incluir el cero. El LD debe ser menor a la especificación de la prueba de impurezas límite. • LD con base en la curva de calibración y la D.E. de regresión lineal: $r^2 \geq 0.98$, intervalo de confianza no debe incluir el cero. El LD debe ser menor a la especificación de la prueba de impurezas límite. • LD con base en la curva de calibración y la D.E. de la ordenada al origen: $r^2 \geq 0.98$, intervalo de confianza no debe incluir el cero. El LD debe ser menor a la especificación de la prueba de impurezas límite. 		
Límite cuantificación	<ul style="list-style-type: none"> • LC con base en la señal de ruido: El LC debe ser menor a la especificación del contenido/valoración de la prueba de impurezas. • LC con base en la curva de calibración y D.E. de los blancos: $r^2 \geq 0.98$, intervalo de confianza no debe incluir el cero. El LC debe ser menor a la especificación del contenido/valoración de la prueba de impurezas. • LC con base a la curva de calibración basado en la D.E. de regresión lineal: $r^2 \geq 0.98$, intervalo de confianza no debe incluir el cero. El LC debe ser menor a la especificación del contenido/valoración de la prueba de impurezas. • LC con base en la curva de calibración y la D.E. de la ordenada al origen: $r^2 \geq 0.98$, intervalo de confianza no debe incluir el cero. El LC debe ser menor a la especificación del contenido/valoración de la prueba de impurezas. 		
Recuperación y sesgo	Recuperación del principio activo de un producto farmacéutico: *Espectroscopia UV-vis, espectrometría de infrarrojo y espectrometría de masas: 98.0-102.0% de recobro *HPLC y CG: 98.0-102.0% de recobro *Absorción atómica: 98.0-102.0% de recobro *Espectroquímica de plasma: 95.0-105.0% de recobro	Producto farmacéutico o biológico: *Espectroscopia UV-vis, espectrometría de infrarrojo y espectrometría de masas: 95.0-105.0% de recobro *HPLC y CG: 95.0-105.0% de recobro *Absorción atómica: 95.0-105.0% de recobro *Espectroquímica de plasma: 95.0-105.0% de recobro	Impurezas o productos de degradación: *Espectroscopia UV-vis y espectrometría de masas: 80.0-120.0% de recobro *Espectrometría de infrarrojo: 70.0-150.0% de recobro *HPLC y CG: 80.0-120.0% de recobro *Absorción atómica: 70.0-150.0% de recobro *Espectroquímica de plasma: 70.0-150.0% de recobro
Especificidad/ Selectividad	La respuesta del método únicamente debe ser debida al analito.		
Reproducibilidad intralaboratorio (precisión intermedia)	<ul style="list-style-type: none"> • $CV \leq 2\%$ para métodos cromatográficos y volumétricos. • $CV \leq 3\%$ para métodos químicos o espectrofotométricos. • $CV \leq 2\%$ para métodos biológicos. 		
Robustez	Calcular la diferencia absoluta de la media aritmética de cada nivel respetando al nivel normal ($ d_i $): $ d_i \leq 2\%$ para métodos cromatográficos y volumétricos; $ d_i \leq 3\%$ para métodos químicos y espectrofotométrico; $ d_i \leq 5\%$ para métodos biológicos.		

2.2.3 Validación retrospectiva y validación prospectiva.

Cuando se trata de un método establecido internamente por el laboratorio que no éste normalizado, se puede realizar una **validación retrospectiva**, es decir, con base en los datos experimentales que el laboratorio dispone, para la cual se realizará la recopilación de la mayor cantidad de datos históricos disponibles, para luego realizar un proceso de ordenamiento y selección de los datos recopilados. Estos datos pueden ser: curvas de calibración, resultados de ensayos, cartas de control, ensayos de desempeño, etcétera. A través de estos, se deberán determinar los parámetros de validación y evaluar sí los resultados obtenidos cumplen con los criterios de aceptación que se muestran en la tabla anterior (**tabla 3**) de este documento.

En el caso de ser un método nuevo no normalizado (o un método antiguo pero que no disponga con suficientes datos) se debe realizar una **validación prospectiva**, que es la realización del método analítico para generar los suficientes datos analíticos para ser evaluados por los parámetros estadísticos de una validación.

2.2.4 Plan de validación

Tipo de protocolo en el cual se define previamente a la experiencia de las pruebas o parámetros de validación necesarios y un diseño experimental a desarrollar con base en los requerimientos del método. Esto se realiza antes de introducir un método analítico nuevo en el laboratorio, ya sea normalizado o no, para asegurar que el laboratorio se pueda realizar correctamente la prueba de interés.

El Plan de validación debe contener al menos:

- Alcance de la validación (método, analito y matrices).
- Diseño experimental: Establecer la(s) muestra(s) a ser analizada(s): testigos reactivos, blanco matriz, material certificados, material control, material(es) de referencia certificado, matrices de las muestras, muestras sin fortificar, muestras fortificadas, etc.

- El (los) parámetro(s) y pruebas a desarrollar, en caso, de que la prueba no sea una convencional, sino diseñada por el responsable, también deberá indicarse en el documento.
- Numero de análisis requeridos para cada prueba y/o parámetro.
- Criterios de aceptabilidad para cada parámetro de validación.
- Analista(s) responsable de realizar la(s) prueba(s) analítica(s).
- Materiales, insumos y equipos necesarios para desarrollar la validación.
- Responsable de la Validación, fecha o tiempo programado para realizar la validación y fecha de elaboración del plan.

Cualquier modificación realizada al plan de validación, durante el proceso, debe quedar debidamente documentada.

2.2.5 Mantenimiento del estado validado

La vigencia de la validación en el laboratorio se debe realizar por periodo definido de tiempo establecido por el laboratorio; sin embargo, una vez que se ha logrado el estado validado deberá mantenerse a través de programas de mantenimiento preventivo para instalaciones, equipos y servicios, así como monitoreo de rutina, actualización de procedimientos y programas de calibración.

Debe efectuarse una revisión periódica de las instalaciones, sistemas y equipo, a fin de determinar si es necesario efectuar una nueva calificación, la cual debe quedar documentada como parte del mantenimiento del estado validado.

Cuando un cambio afecte la calidad, características del producto, o sus componentes y/o proceso, debe llevarse a cabo una nueva validación. Cuando se han efectuado cambios mayores en servicios, sistemas o equipos, trabajos de mantenimiento, y de movimientos que generen un impacto en los métodos analíticos.

2.2.6 Características de la verificación y la validación

La verificación, tiene como objetivo, el comprobar que el laboratorio domina el método de ensayo normalizado y lo utiliza correctamente, en caso de tratarse de un método normalizado con una modificación se realiza la validación para saber que la variación realizada no afecta el ensayo.

En algunos casos se puede realizar lo que se conoce como validación cuando se trate de:

1. Métodos no normalizados.
2. Métodos normalizados usados fuera de su alcance propuesto. Ejemplo: uso en otra matriz.
3. Modificaciones menores de métodos normalizados. Ejemplo: uso en otros analito.
4. Cuando se trate de métodos previamente validados, que haya sufrido alguna alteración significativa por lo cual deben volver a evaluarse. Estas variaciones pueden ser; cambio de equipo, cambio de componentes de equipo como columnas, detectores, cambio analista, cambio de la matriz que contiene la muestra o de nivel de concentración del analito de interés, entre otros.
5. Muestras sin analito pero contaminadas con una sustancia de estructura similar.
6. Solución de patrón de la sustancia a identificar, preparado a una concentración equivalente a las anteriores.

2.2.7 Protocolo de verificación

En un protocolo de verificación se evalúa el desempeño particular de un método, también se revisan los materiales, reactivos que se van a utilizar que se mencionan en las especificaciones.

Confirmar que todos los materiales y reactivos cumplen con los criterios de calidad. Antes de cada verificación deberá comprobarse que el equipo utilizado, cumple con el calendario de mantenimiento, calificación si aplica y calibración.

Con base en el protocolo de verificación se desea saber que se cuenta con todos los materiales y reactivos, es conveniente contar con un cronograma de las actividades y los analistas que participaran en la evaluación del desempeño.

El proceso que se va a seguir debe constar por escrito como procedimiento normalizado de trabajo. Una vez validados o verificados los métodos, su uso habitual en el laboratorio debe seguirse sin ninguna modificación en el proceso.

Tómese nota de que los procedimientos normalizados de trabajo para validar o verificar un método, lo mismo que cualquier otro procedimiento normalizado que figure en el manual de calidad del laboratorio, deben ser aprobados por aseguramiento de la calidad y el responsable sanitario.

Una vez aprobados, es fundamental que se respeten estrictamente todos ellos. Si se introducen variaciones, debe dejarse constancia documental del hecho. Si se introduce un cambio importante será necesario volver a validar las nuevas condiciones del método. En cualquier caso, debe utilizarse la última versión aprobada de los procedimientos normalizados de trabajo.

La documentación que se maneja en un sistema de garantía de la calidad es compleja por naturaleza y por consiguiente los laboratorios deben disponer de un procedimiento adecuado de control de la documentación.

2.2.8 Informe de verificación

El responsable de la verificación, deberá realizar un informe en el cual presentará los resultados obtenidos y conclusiones. El informe debe contener la declaración de la aplicación del método.

El laboratorio debe tener disponible el procedimiento usado para la verificación, y una declaración acerca de que el método se ajusta para el uso propuesto.

Este informe deberá ser revisado por una tercera persona que tenga conocimiento en el proceso, y que no haya formado parte del proceso de verificación. En dicha revisión se deberá establecer si los criterios establecidos en el plan son aceptables, y si el método es idóneo para el fin previsto.

El informe de verificación debe contener al menos los siguientes puntos:

1. Objetivo y alcance del método aplicabilidad.
2. Tipo de analito y tipo de matriz sobre la que se hizo la verificación.
3. Detalles del analito, reactivos, estándares de referencia y control y estabilidad de las muestras preparadas.
4. Procedimiento para la confirmación de la calidad de los estándares y reactivos químicos usados.
5. Condiciones de seguridad.
6. Parámetros del método.
7. Detalles de las condiciones y como fue realizado el proceso, incluyendo la preparación de la muestra.
8. Tratamiento estadístico y cálculos realizados.
9. Registros de los resultados obtenidos como son cromatogramas, espectros y/o curvas de calibración.
10. Pruebas de aceptación de las variables.
11. Resultados de la incertidumbre de la medición.
12. Cumplimiento de los criterios de aceptación para los parámetros de desempeño de la verificación.
13. Persona que desarrollo y verifico el método.
14. Resumen y conclusiones.

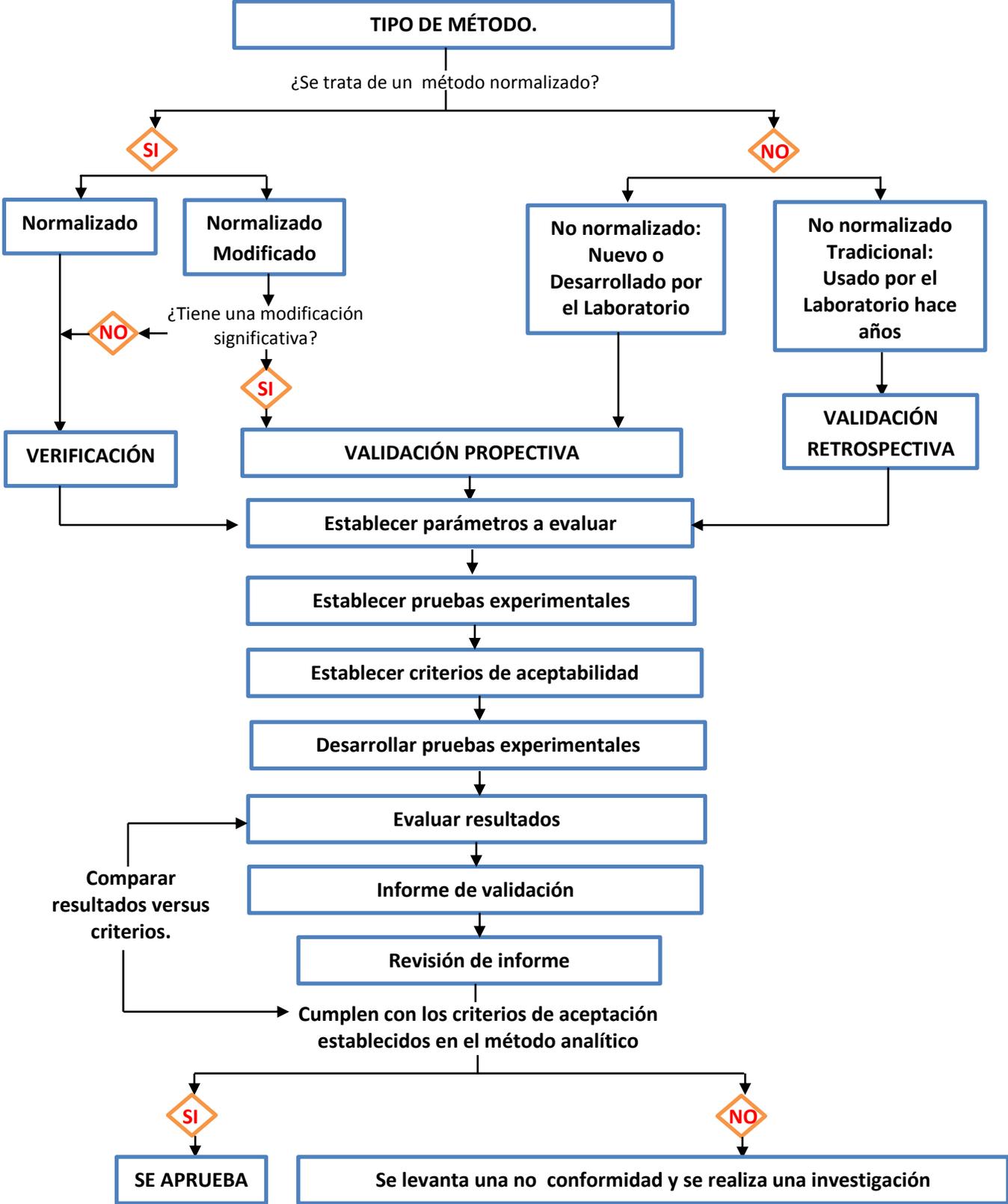


Figura 1. Diagrama de decisiones para realizar una Validación o una Verificación. [4]

2.3 Suturas quirúrgicas

La palabra sutura describe cualquier hilo de material utilizado para ligar los vasos sanguíneos o los tejidos. El propósito de una sutura es sostener unidos los bordes de una herida hasta que el proceso natural de cicatrización sea lo suficientemente bien establecido para retirar después la sutura.

2.3.1 Propiedades de absorción

La fabricación de las suturas es de colágena de mamíferos sanos o de polímeros sintéticos. Algunas se absorben rápidamente, mientras que otras son tratadas, o recubiertas químicamente, para prolongar el tiempo de absorción. Puede también estar impregnadas con agentes que mejoran sus propiedades de manejo y teñidas por un colorante aprobado por la FDA para aumentar su visibilidad en el tejido.

*“Las suturas absorbibles naturales son digeridas por el organismo que ataca y degrada el hilo de sutura (**proteólisis**). Las sintéticas absorbibles son hidrolizadas, es decir, penetra gradualmente agua en los filamentos de la sutura ocasionando degradación de la cadena del polímero (**hidrólisis**). En comparación con la acción enzimática de las suturas absorbibles naturales, la hidrólisis ocasiona menor grado de reacción tisular después de colocarse en el tejido. Las suturas no absorbibles no son digeridas ni hidrolizadas y por lo tanto no sufren absorción.”^[1] Materiales de sutura; Juliana Buitrago Jaramillo, MD., MSc.; pagina 8.*

Tabla 5. Clasificación de suturas absorbibles de acuerdo a la FEUM “Suplemento de dispositivos médicos”.

TIPO ABSORBIBLES	DESCRIPCIÓN
Sintéticas	Monofilamento de polidioxanona: La hebra está fabricada con monofilamento de polidioxanona, material sintético absorbible, en color natural, pigmentada con colorante de acuerdo al fabricante. Polímero de ácido glicólico con o sin recubrimiento, dioxanona, carbonato de trimetilo y glicólida.
Poligliconato	Es un hilo de material sintético absorbible compuesto por un filamento que puede ser incoloro, teñido o pigmentado por la adición de un color, para aumentar su visibilidad durante el uso. Monofilamento de polímero de glicólida, E-caprolactona, poli (L-lactida/glicólida) o similar.
Naturales: Catgut simple y Catgut y Catgut crómico	Es una hebra de material colágeno preparada del segmento longitudinal del tejido seroso del intestino delgado del ganado bovino y/u ovino (exclusivamente calibres 6-0 y 7-0), con o sin tratamiento químico para retardar su digestión por las enzimas del organismo, en el caso de Catgut crómico es de color café.

Tabla 6. Clasificación de suturas no absorbibles de acuerdo a la FEUM “Suplemento de dispositivos médicos”.

TIPO NO ABSORBIBLES	DESCRIPCIÓN
Sintéticas	Acero quirúrgico. Poliéster trenzado. Monofilamento de polipropileno. Monofilamento de polifluoruro de vinilideno y polifluoruro de vinilideno-co-hexafluoruro de polivinilideno (PVDF). Politetrafluoroetileno (PTFE).
Seda negra trenzada	Seda natural grado “AAAA” o “AAAAA” trenzada, con recubrimiento de silicón con diferente número de hilos, dependiendo del calibre y teñida con colorante de acuerdo al fabricante.
Seda virgen	Son hebras de seda natural grado “AAAA” o “AAAAA” torcido natural y regular, la cual se utiliza teñida de azul o natural, con colorante de acuerdo al fabricante.
Poliéster	La hebra está fabricada con fibra de polietilen tereftalato trenzada, con o sin recubrimiento de polibutilato o silicón en color natural, teñida o pigmentada con colorante de acuerdo al fabricante.
Nylon	Es una hebra fabricada con nylon (poliamida) 6 ó 6.6 que puede presentarse como monofilamento, teñida o pigmentada de acuerdo al fabricante.
Polipropileno	Es una hebra fabricada con monofilamento de polipropileno pigmentado o teñida con colorante de al fabricante.
Polibutester	Es una hebra fabricada con monofilamento de Polibutester, teñido o pigmentado con colorante de acuerdo al fabricante.

2.3.2 Número de hebras

De acuerdo al número de hebras, las suturas se clasifican en monofilamento o multifilamento, según estén hechas de una sola hebra o de varias hebras respectivamente (**Figura 2**).



Figura 2. Algunos ejemplos de suturas monofilamento y multifilamento con sus respectivos colores de identificación. [1] **Materiales de sutura; Juliana Buitrago Jaramillo, MD., MSc.; pagina 9.**

Las suturas monofilamentosas encuentran menos resistencia al pasar a través del tejido, lo que las hace adecuadas para tejidos blandos; por ejemplo, para la cirugía vascular. Deben manejarse con sumo cuidado, ya que si se comprimen o aprietan, puede crearse una muesca o un punto débil en la sutura que resulta en la ruptura de la misma.

Las suturas multifilamentosas construidas por varios filamentos torcidos o trenzados juntos, proporcionan mayor fuerza de tensión y flexibilidad. También pueden venir recubiertas para facilitar el paso suave a través del tejido y el manejo de la misma. Las suturas multifilamento son adecuadas para procedimientos intestinales.

2.3.3 Fuerza tensil

La fuerza tensil o de tensión se mide por la fuerza en libras (peso) que el hilo de la sutura puede soportar antes de romperse al ser anudado (**Tabla 7**). La fuerza de tensión del tejido que va a ser reparado predetermina el calibre y la fuerza de tensión del material de sutura que elige el cirujano. A medida que la sutura pierde la fuerza, la herida gana fuerza tensil por si misma de manera que para algunos

tejidos como la piel, en un lapso aproximado de siete días la herida tiene suficiente fuerza tensil como para que sus bordes se mantengan unidos. Así, los puntos en piel se retiran aproximadamente a la semana de haber sido colocados. Si los puntos de sutura se retiran antes, se corre el riesgo de que se abra nuevamente la herida, entonces en este caso es recomendable mantener afrontados los bordes por unos días más con cintas adhesivas.

Tabla 7. Fuerza tensil expresada en Kg F/mm² de algunos materiales de sutura.

Fuerza tensil de algunos materiales de Sutura Kg F/mm²	
Acero monofilamento	162.6 ± 0.4
Acero multifilamentos	113.8 ± 1.4
Poliéster no recubierto	86.4 ± 0.7
Poliéster recubierto	90.1 ± 0.6
Ácido poliglicólico	67.9 ± 2.2
Polipropileno	162.6 ± 0.4
Poliamida monofilamento	76.6 ± 1.7
Poliamida multifilamento	70.9 ± 0.5
Seda	45.6 ± 0.3
Algodón	46.0 ± 1.1
Catgut	49.5 ± 0.5

2.3.4 Selección de suturas

La elección por parte del cirujano está influida por su área de especialización; su experiencia; su escuela y el conocimiento que tenga sobre la cicatrización de los tejidos, las características biológicas y físicas de los diferentes materiales de sutura y los factores del paciente. En la **tabla 8** se sugiere algunos ejemplos en la selección de las suturas:

Tabla 8. Lugar de aplicación de las suturas.

Tipo de Sutura	Lugar de aplicación sugerido
Propileno, seda o polibutester	Piel
Catgut	Vejiga
Seda	Mucosa y lengua
Alambre	Hueso
Vycril	Tracto gastrointestinal
Prolene cv	Anastomosis vasculares
Prolene	Tracto respiratorio

2.3.5 Acabado de la sutura

Las suturas quirúrgicas pueden ser sin aguja, con una o dos agujas. Las suturas con calibre 4-0 a 5-0 llevarán aguja perforada en su parte proximal, las suturas con calibre 5-0 a 11-0 podría llevar aguja de canal o una aguja perforada en su parte proximal.

El acabado de las suturas, debe ser libre de nódulos, roturas, material extraño, piezas desensambladas, colores diferentes, porciones planas, *separación de capas* y deshilachamientos, estas dos últimas características aplican sólo para monofilamentos.

2.3.6 Acabado de las agujas

El acabado de las aguja es libre de rebabas, puntas romas o deformes, fisuras, fracturas, marcas de esmerilado, ralladuras, áreas rugosas, corrosión a simple vista, poros y deformaciones. Se debe considerar si se tiene acabado satinado, mate o espejo, para saber que la aguja no presenta una reacción de oxidación o una contaminación biológica.

2.3.7 Forma de la aguja

Las agujas quirúrgicas poseen tres partes estructurales: el ojo, el cuerpo y la punta. Estas partes han sido diseñadas de diferentes formas, con diferentes combinaciones para diferentes propósitos.

La forma de las agujas puede ser variable con base en la posible combinación del tipo de curvatura, tamaño y tipo de punta de las agujas, para las cuales se considera lo siguiente:

- Tipos de curvaturas: 1/4 círculo, 1/2 círculo, 3/8 círculo, 5/8 círculo o recta, entre otras (**Tabla 9**).

Tabla 9. Forma de la Curvatura de las Agujas.

FORMA DE LA CURVATURA	CARACTERÍSTICAS
Recta. 	Suturar tejidos de fácil acceso, como piel.
Media curva. 	Cierre de piel o procedimientos laparoscópicos.
1/4 de círculo. 	Suturar procedimientos oftalmológicos y en microcirugía.
3/8 de círculo. 	Cierre de vías biliares, aparato digestivo, músculo, miocardio. Nervios, tendones, vasos, entre otros.
1/2 de círculo. 	Cierre de aponeurosis, vías biliares, aparato digestivo, musculo, mucosas bucales, tejido adiposo, peritoneo, pleura, sistema urogenital y piel.
5/8 de círculo. 	Suturar sistema cardiovascular, cavidad nasal, faringe, lechos amigdalinos, órganos pélvicos, sistema urogenital.

- Tipos de punta: ahusada, reverso cortante, cortante convencional, espatulada, recta cortante, recta redonda, redonda punta cortante, punta roma, ahusada cortante o ahusada cuerpo redondo cortante entre otras (**Tabla 10**).

Tabla 10. Forma de la Punta de las Agujas.

FORMA DE PUNTA DE LAS AGUJAS		CARACTERÍSTICAS
Punta ahusada. 		Para tejidos blandos, fáciles de penetrar.
Punta roma. 		Cuerpo que se adelgaza progresiva/para disección roma y sutura de tejidos friables.
Corte convencional. 		Dos bordes cortantes opuestos y un tercero dentro de la curva.
Reverso cortante. 		Borde cortantes en la punta exterior para tejidos duros, fáciles de penetrar.
Tapercut. 		Aguja cortante, cuerpo que se adelgaza progresivamente para tejidos duros.
Aguja espátula. 		Bordes cortantes laterales en espátula para las capas de la esclerótica o del tejido corneal. Máxima estabilidad para la delgada esclerótica con cuatro bordes equidistantes para mayor control.

- La forma de la aguja cumple con lo indicado en el dibujo que viene en el envase primario o secundario.
- Si la sutura está envasada en líquido, realizar las pruebas de dimensiones, resistencia a tensión de la sutura y resistencia del ensamble de la hebra con la aguja, durante los 2 minutos después de haber extraído la sutura del líquido.

2.3.8 Suturas de catgut crómico

Es una sutura absorbible estéril, compuesta por tejido conectivo purificada (principalmente colágeno) derivado de la serosa de los intestinos de la carne bovina. *“Se envasa en una solución de 90 % de alcohol isopropílico, 0.5% benzoato de sodio, 0.5 % Dietiletanolamina cps y 100 % del agua destilada”.* [2] INMASERCA, Representante exclusivo de Suturas Medical LLC, pagina 7. Las suturas crómicas son tratadas con oxido de cromo que logra una mayor resistencia a la descomposición y una menor inflamación en el tejido aplicado. *“El mecanismo de absorción es por fagocitosis. Es digerido por las enzimas del cuerpo. La sutura de catgut crómico cumple con los requisitos establecidos por la USP. Se encuentra disponible en color marrón”.* [2] INMASERCA, Representante exclusivo de Suturas Medical LLC, pagina 7.

2.3.9 Presentación de las suturas catgut crómicos

“Las suturas de catgut crómico estériles están disponibles en tamaños de USP 6-0 a la 2 (medidas métricas 1,0 -6,0), en una variedad de longitudes, con o sin aguja fija. La sutura catgut crómico están disponibles en cajas de entre una y tres docenas (**Figura 3**)”. [2] INMASERCA, Representante exclusivo de Suturas Medical LLC, pagina 9.



Figura 3. Ilustración de Suturas catgut crómicas de color café.

2.3.10 Indicaciones de las suturas catgut crómicos

Está indicada para su uso en la aproximación general de los tejidos blandos y/o ligadura, incluyendo el uso en procedimientos oftálmicos, ortopédica, obstetricia, ginecología, cirugía general, urología, cirugía del tracto gastrointestinal, cuticular y ligaduras. No está indicado para uso en procedimientos cardiovasculares y neurológicos.

2.3.10 Acciones de las suturas catgut crómicos

La pérdida de resistencia a la fuerza de tensión es debido al proceso digestivo enzimático proteolítico que disuelve a la sutura quirúrgica hasta que se absorbe completamente. Existen factores que pueden afectar la velocidad de absorción y la pérdida de tensión, son:

1. La relación de la sutura – liso intestinal, generalmente se espera que se absorba más rápidamente la sutura.
2. Una infección quirúrgica, la sutura catgut se absorbe más rápidamente en el tejido infectado, que en él que no lo está.

3. *“Zonas de tejido quirúrgico, en donde las suturas catgut se absorben rápidamente por los altos niveles de enzimas proteolíticas que están presentes en el estómago, cuello uterino y vagina”.* [2] INMASERCA, Representante exclusivo de Suturas Medical LLC, pagina 7.

2.3.11 Contraindicaciones de las suturas catgut crómicos

En el momento cuando la sutura se coloca en el tejido, produce una reacción inflamatoria moderada característica de un cuerpo extraño o una sustancia extraña.

El uso de está sutura es contraindicado en pacientes con sensibilidad conocidas o alergias al colágeno o cromo.

2.3.12 Precauciones de las suturas catgut crómicos

Evitar aplastar, prensar o realizar daños al manipular la sutura con instrumentos quirúrgicos como pinzas o porta agujas.

Se requiere de una técnica adecuada para realizar un nudo seguro de vínculos planos y cuadrados, con dos tiros adicionales según lo ameriten las circunstancias y la experiencia del cirujano. El cirujano debe de evitar la tensión innecesaria cuando corra los nudos, para reducir el desgaste y debilitamiento de la base de la sutura.

2.3.13 Reacciones adversas de las suturas catgut crómicos

“Los efectos adversos asociados con el uso de este dispositivo son: dehiscencia de la herida, tasas variables de absorción con el tiempo (en función del tipo de sutura utilizado, la presencia de la infección y del sitio del tejido), falta de apoyo adecuado de la herida en el cierre de los sitios donde la expansión, estiramiento o distensión, etcétera, a menos que cuente con apoyo adicional a través de la utilización de material de sutura no absorbible, no presenta un adecuado soporte a la herida en pacientes de edad avanzada, desnutridos o debilitados o en pacientes

que sufren de cáncer, anemia u obesidad. La diabetes, infección u otras condiciones que pueden retrasar la curación de heridas.” [2] INMASERCA, Representante exclusivo de Suturas Medical LLC, pagina 8.

Las fibras de colágeno se pueden llegar a contaminan con facilidad y experimenta un hinchamiento el tejido donde se aplicó y una prematura absorción en el organismo, de modo que el proceso de absorción deja de ser uniforme. Como reacciones adversas en donde el catgut crómico produce una reacción alérgica en el área intervenida por los macrófagos y linfocitos, donde la reabsorción es irregular, siendo afectada por la presencia se enzimas proteolíticas procedentes de los macrófagos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Definir los criterios mínimos para llevar a cabo las actividades de verificación para el método de *Contenido de cromo total para suturas de catgut crómico*, así como los lineamientos para el desarrollo del mismo.

3.2 Objetivos secundarios

- Determinar que las suturas catgut crómico no exceda el límite de cromo total, para que no tenga riesgos para la salud.
- Verificar que el método analítico reportado en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos sea el adecuado para la determinación de las suturas catgut crómicas que se utilizan en este laboratorio.
- Verificar que el método analítico cumpla con los parámetros establecidos tanto con la guía del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C.

4. HIPÓTESIS

El método analítico utilizado para la determinación del contenido de cromo total para analizar las suturas catgut crómico publicado en el Suplemento de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicano, cumple con los parámetros de verificación analítica.

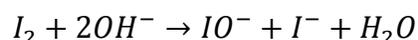
5. PROCEDIMIENTO DE LA DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE CROMO TOTAL PARA LA SUTURAS QUIRÚRGICAS CATGUT CRÓMICAS

5.1 Fundamento del método analítico

El ión yoduro es un agente reductor débil y reduce a los agentes oxidantes fuertes. Sin embargo, no se usa como titulante, principalmente por la falta de un sistema indicador visual adecuado.

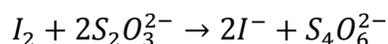
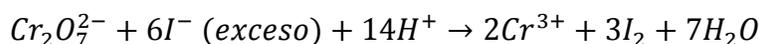
Cuando se agrega un exceso de yodo al agente oxidante, se produce I_2 en una cantidad equivalente al agente oxidante presente. El yodo (I_2) se puede titular con un agente reductor y sería el mismo resultado que sí titulará directo el agente oxidante. El agente titulante que se utiliza es el tiosulfato de sodio.

Las titulaciones con I_2 se llaman métodos yodimétricos. Estas titulaciones en general se realizan en soluciones desde neutras o suavemente alcalinas (pH 8), hasta débilmente ácidas. Si el pH es demasiado alcalino, el I_2 se desproporcionará en hipoyodato (IO^-) y yoduro (I^-):



La razón para evitar que la solución se vuelva fuertemente ácida es que el almidón que se usa para la detección del punto final tiende a hidrolizarse o descomponerse en un medio fuertemente ácido y por tanto el punto final se puede afectar. El punto final se detecta por la aparición del color azul del almidón de yoduro.

En la yodométrica el analito es un agente oxidante que reacciona con I^- para formar I_2 . El I_2 se titula con tiosulfato de sodio, usando como punto final la desaparición del color yodo-almidón.



Cada $Cr_2O_7^{2-}$ produce $3I_2$ que a su vez reaccionan con $6S_2O_3^{2-}$. Los milimoles de $Cr_2O_7^{2-}$ son equivalentes a un sexto de los milimoles de $S_2O_3^{2-}$ usados en la titulación.

De acuerdo con la titulación de tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$) reacciona con el dicromato ($Cr_2O_7^{2-}$) para obtener el cromo trivalente (Cr^{3+}) como óxido de cromo (Cr_2O_3).

A continuación se observa la demostración del cálculo que se encuentra en el Suplemento de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 3° Edición, página 720.

$$3.3 mL Na_2S_2O_3 \left(\frac{0.0432 \text{ eq } Na_2S_2O_3}{1000 \text{ mL}} \right) \left(\frac{1 \text{ eq } Cr_2O_3}{6 \text{ eq } Na_2S_2O_3} \right) \left(\frac{151.99 \text{ g } Cr_2O_3}{1 \text{ eq } Cr_2O_3} \right) = 0.00361128 \text{ g } Cr_2O_3$$

$$\left(\frac{0.00361128 \text{ g } Cr_2O_3}{1.0012 \text{ g } Cr_2O_3} \right) 100\% = 0.36069\% Cr_2O_3$$

Formula de la FEUM, Suplemento 2016, 3° Edición, página 720:

$$\left(\frac{0.04 \text{ eq } Na_2S_2O_3}{1000 \text{ mL}} \right) \left(\frac{1 \text{ eq } Cr_2O_3}{6 \text{ eq } Na_2S_2O_3} \right) \chi \left(\frac{151.99 \text{ g } Cr_2O_3}{1 \text{ eq } Cr_2O_3} \right) = 0.001013 \text{ g/mL}$$

$$\%Cr_2O_3 = \frac{\left(\frac{0.001013 \text{ g}}{\text{mL}} \right) * (\text{mL}) * \left(\frac{\text{eq}}{\text{mL}} \right)}{\left(\frac{\text{eq}}{\text{mL}} \right) * (\text{g})} * 100\%$$

$$\%Cr_2O_3 = \frac{(0.001013)(V)(N)(100)}{(n)(m)}$$

Dónde:

V= Volumen de titulante

N=Normalidad real de tiosulfato de sodio

m= Peso de la muestra

n=Normalidad teórica de tiosulfato de sodio

$$\%Cr_2O_3 = \frac{(0.001013)(V)(N)(100)}{(N)(m)}$$

$$\%Cr_2O_3 = \frac{(0.001013)(3.3 \text{ mL})(0.0432N)(100)}{(0.04N)(1.0012 \text{ g})} = 0.3606\%$$

Nota: En la demostración de las ecuaciones anteriores los datos que se sustituyeron son los datos reales obtenidos de la verificación del método.

5.2 Reactivos

- **Mezcla de ácidos:** Mezclar 200 mL de la solución de ácido perclórico al 70 % con 70 mL de solución de ácido nítrico al 67 %.
- **SR1** de yoduro de potasio al 20 % m/v. Se pesaron 20 g de yoduro de potasio y se diluyeron con 100 mL de agua destilada. La solución se prepara el mismo día de la prueba.
- **SV** de tiosulfato de sodio 0.04 N. A partir de una solución valorada de 0.1 N, se toma una alícuota de 100 mL y se aforo a 250 mL con agua destilada previamente hervida.
- Valoración de la solución de tiosulfato de sodio: Se pesan con exactitud de 210 mg de bicarbonato de potasio previamente pulverizado y secado a 120 °C, durante 4 horas disolvieron con 100 mL de agua en un matraz. Posteriormente se agregaron 3 g de yoduro de potasio, 2 g de bicarbonato de sodio y 5 mL de HCl (1:6) (ácido clorhídrico) y dejar reposar en la oscuridad por 10 minutos. Se tituló el yodo liberado con la solución de tiosulfato de sodio hasta el vire a color verde amarillento. Se agregaron 3 mL de solución indicadora de almidón y continuó la titulación hasta la desaparición del color azul. Se calculó la normalidad obteniendo promedio de la solución de Tiosulfato de sodio es de $0.0432 \text{ N} \pm 0.0004$.
- Solución de almidón al 0.5 % m/v. Se mezcló 1 g de almidón soluble con 10 mg de yoduro de mercurio rojo y suficiente agua fría para hacer una pasta fina, se agregaron 200 mL de agua en ebullición y se dejó hervir por un minuto con agitación constante. Se enfrió a temperatura ambiente. La solución se almacena y conserva en refrigeración por un tiempo de un mes.

5.3 Equipos

- Horno, Marca RIOSSA, Modelo H48, Número de serie 20306.
- Balanza Analítica, Marca Voyager Ohaus. Modelo V12140, Alcance: 0 a 210 g.
Incertidumbre: $\pm 0.22 \text{ mg} = \pm 0.00022 \text{ g}$.

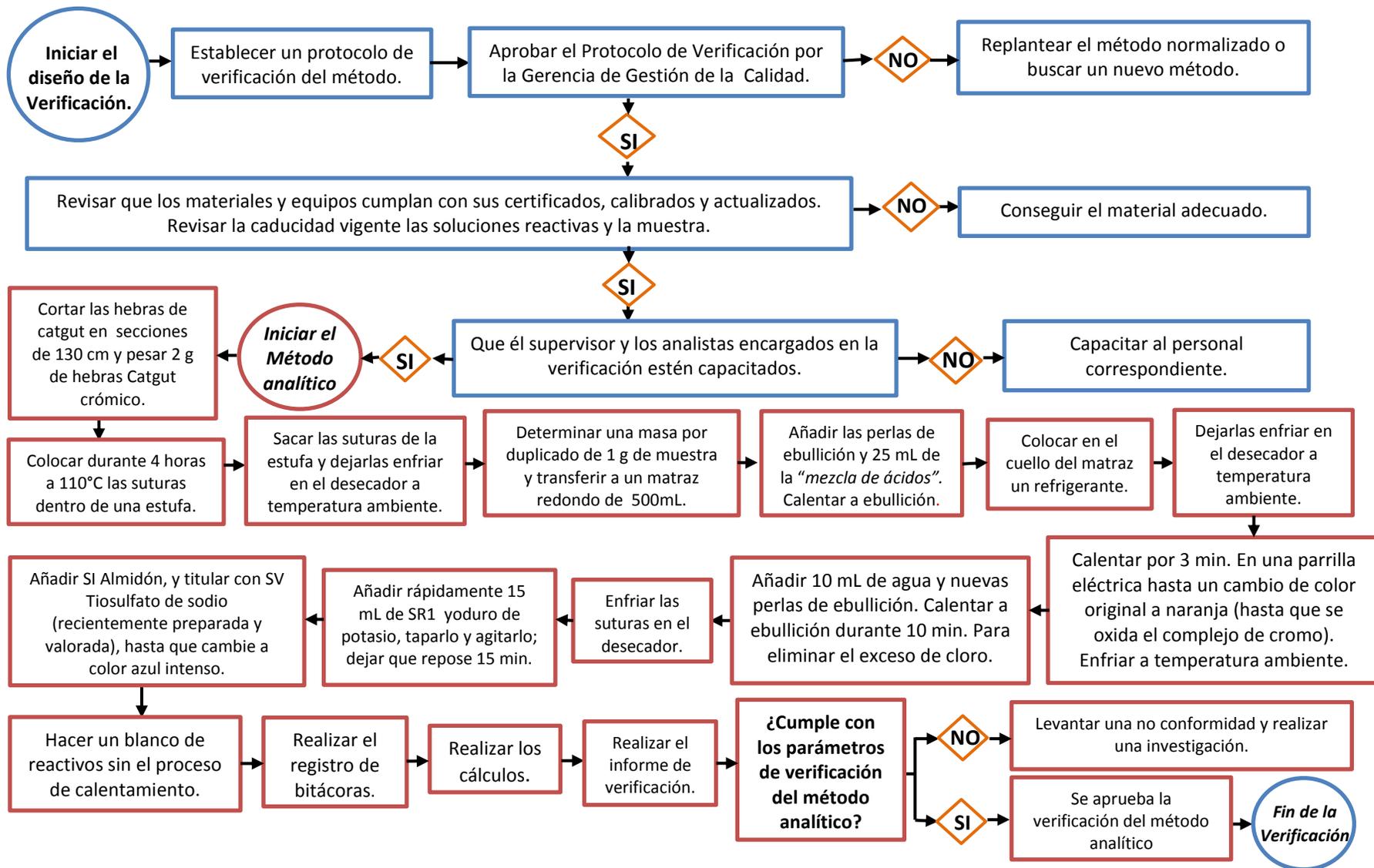
5.4 Muestras

Las muestras utilizados para la verificación del análisis del método, corresponde a lotes de materia prima.

Tabla 10. Características de las muestras utilizadas en la verificación del método.

Muestra/Producto	Cantidad	Especificaciones
Hebra de Catgut crómico, Calibre 0, Proveedor COFIBAM.	8 Piezas	Contenido de Cromo total: 0.2 a 0.7%
Hebra de Catgut crómico, Calibre 1, Proveedor COFIBAM.	8 Piezas	Contenido de Cromo total: 0.2 a 0.7%

5.5 Procedimiento de la verificación:



Los parámetros de desempeño y criterios de aceptación que se van a utilizar en la Verificación del método analítico se encuentran en la **tabla 11** (estos parámetros para la verificación se seleccionaron con base a que el método analítico utilizado está clasificado en la categoría IV de acuerdo con la **tabla 1**).

Tabla 11. Parámetros que se revisaron en la verificación del método analítico.

PARAMETROS	MUESTRA	ACTIVIDADES/CALCULOS	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
Repetibilidad	Hebra de Catgut crómico, calibre 0 y 1.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cada lote de suturas se analizó por un analista de acuerdo al procedimiento estándar de operación, en su versión vigente, en un periodo corto de tiempo. 2. Se calculó la media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación. 	Se estableció entre el método interno del laboratorio y por laboratorios externos un coeficiente de variación menor o igual de 7.0%.
Reproducibilidad	Hebra de Catgut crómico, calibre 0 y 1.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cada lote de suturas se analizó por un segundo analista en un día diferente con el mismo procedimiento estándar de operaciones y equipos. 2. Se combinaron los resultados de ambos analistas y se determinó la media aritmética, Desviación estándar y Coeficiente de Variación. 	Se estableció entre el método interno del laboratorio y por laboratorios externos un coeficiente de variación menor o igual de 7.0%.
Incertidumbre	De la información obtenida de la validación se estimó el valor de este parámetro.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Especificar el mensurado. 2. Identificar las fuentes de incertidumbre. 3. Cuantificar los componentes de la incertidumbre. 4. Calcular la incertidumbre expandida. 	Que los resultados de la prueba no pasen los límites establecidos en el Suplemento de la FEUM, aun incluyendo el valor de la incertidumbre expandida.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Datos experimentales

Se analizaron 2 lotes de materia prima de las suturas catgut crómicas: uno de estos lotes es de calibre cero y el segundo es de calibre 1 con respecto a la USP. Ambos lotes se analizaron por 2 analistas diferentes y en 2 días diferentes se realizó este método analítico. En las **tablas 12 y 13** se observan los datos que se obtuvieron por la titulación de tiosulfato de sodio en las 2 muestras de las suturas de catgut crómicas.

Tabla 12. Resultados obtenidos experimentalmente del lote de suturas analizadas calibre cero.

Analista 1 suturas catgut crómicas calibre cero					
Blanco	Volumen gastado de tiosulfato de sodio en el blanco (mL)	Peso de las muestra (g)	Volumen gastados de tiosulfatos de sodio en la sutura (mL)	Volumen corregido tiosulfato de sodio (mL)	%Cr ₂ O ₃
B I 1	0.3	1.0012	3.6	3.3	0.36060
B I 2	0.3	1.0014	3.6	3.3	0.36053
B I 3	0.3	1.0018	3.7	3.4	0.37131
B I 4	0.3	1.0014	3.7	3.4	0.37145
		1.0017	3.7	3.4	0.37134
		1.0017	3.7	3.4	0.37134
		1.0019	3.7	3.4	0.37127
		1.0015	3.7	3.4	0.37142
Analista 2 suturas catgut crómicas calibre cero					
Blanco	Volumen gastado de tiosulfato de sodio en el blanco (mL)	Peso de las muestra (g)	Volumen gastados de tiosulfato de sodio en la sutura (mL)	Volumen corregido tiosulfato de sodio (mL)	%Cr ₂ O ₃
B II 1	0.3	1.0036	3.7	3.4	0.37064
B II 2	0.3	1.0039	3.7	3.4	0.37053
B II 3	0.3	1.0044	3.7	3.4	0.37034
B II 4	0.3	1.0042	3.7	3.4	0.37042
		1.0029	3.7	3.4	0.37090
		1.0040	3.7	3.4	0.37049
		1.0040	3.7	3.4	0.37049
		1.0037	3.7	3.4	0.37060

Tabla 13. Resultados obtenidos experimentalmente del lote de suturas analizadas calibre uno.

Analista 1 suturas catgut crómicas calibre 1					
Blanco	Volumen gastado de tiosulfato de sodio en el blanco (mL)	Peso de la muestra (g)	Volumen gastado de tiosulfato de sodio en la sutura (mL)	Volumen corregido tiosulfato de sodio (mL)	%Cr ₂ O ₃
B I 1	0.3	1.0016	3.1	2.8	0.30584
B I 2	0.3	1.0019	3.1	2.8	0.30575
B I 3	0.3	1.0020	3.1	2.8	0.30572
B I 4	0.3	1.0022	3.1	2.8	0.30576
		1.0017	3.1	2.8	0.30581
		1.0024	3.1	2.8	0.30589
		1.0018	3.1	2.8	0.30578
		1.0016	3.1	2.8	0.30584
Analista 2 suturas catgut crómicas calibre 1					
Blanco	Volumen gastado de tiosulfato de sodio en el blanco (mL)	Peso de la muestra (g)	Volumen gastado de tiosulfato de sodio en la sutura (mL)	Volumen corregido tiosulfatos de sodio (mL)	%Cr ₂ O ₃
B II 1	0.3	1.0017	3.1	2.8	0.30581
B II 2	0.3	1.0019	3.1	2.8	0.30575
B II 3	0.3	1.0018	3.1	2.8	0.30578
B II 4	0.3	1.0016	3.1	2.8	0.30584
		1.0011	3.1	2.8	0.30599
		1.0013	3.1	2.8	0.30593
		1.0017	3.1	2.8	0.30581
		1.0017	3.1	2.8	0.30581

6.2 Reproducibilidad.

De acuerdo a la **tabla 14** se analizó si el método es reproducible bajo condiciones de análisis diferentes (analista, días y condiciones ambientales). Se demostró que existe una precisión intermedia aceptable ya que el coeficiente de variación menor al 7.0% en ambos lotes de suturas (lote de suturas catgut crómicas calibre cero el %C.V. es de 0.96 y el lote de suturas catgut crómicas calibre el %C.V. es de 0.023).

Tabla 14. Reproducibilidad en la determinación de cromo total en catgut crómico.

	%CROMO TOTAL	
	Sutura calibre cero	Sutura calibre 1
ANALISTA 1 DÍA 1	0.36060	0.30584
	0.36053	0.30575
	0.37131	0.30572
	0.37145	0.30576
	0.37134	0.30581
	0.37134	0.30589
	0.37127	0.30578
	0.37142	0.30584
ANALISTA 2 DÍA 2	0.37064	0.30581
	0.37053	0.30575
	0.37034	0.30578
	0.37042	0.30584
	0.37090	0.30599
	0.37049	0.30593
	0.37049	0.30581
	0.37060	0.30581
Media	0.369604375	0.305819
Desviación estándar	0.003551604	0.0000702822
%C.V.	0.96	0.023

Se realizó una **ANOVA 1** con las medias obtenidas de las concentraciones de cromo total (**tabla 15**), que se calculó con resultados de los 2 analistas para el lote de las suturas de catgut crómicos calibre cero.

Tabla 15. Medias entre los 2 analistas en la determinación de cromo total en catgut crómico en las suturas calibre cero.

%CROMO TOTAL EN LAS SUTURAS CALIBRE CERO	
ANALISTA 1 DÍA 1	ANALISTA 2 DÍA 2
0.36060	0.37064
0.36053	0.37053
0.37131	0.37034
0.37145	0.37042
0.37134	0.3709
0.37134	0.37049
0.37127	0.37049
0.37142	0.3706
Media = 0.3686575	Media = 0.37055125
D. E. =0.004995163	D. E.= 0.000169742
%C.V. = 1.35496027	%C.V. = 0.045808091

HIPOTESIS:

H_0 = Las medias entre los resultados son iguales.

H_1 = Las medias entre los resultados son diferentes.

En la **tabla 16** se puede observar los resultados de la **ANOVA 1** donde la F calculada en un intervalo de confianza de 95% es de $F = 1.14851$ es menor que el valor crítico para $F = 4.6001099$ y el valor de p (probabilidad) es mayor que 0.05 ($p = 0.3019887$ de las suturas calibre cero) por lo tanto se acepta H_0 (las medias entre los resultados son iguales). Lo que nos indica que no hay una diferencia significativa entre los resultados obtenidos de cada analista.

Tabla 16. ANOVA 1 suturas catgut crómicas de calibre cero.

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Analista 1	8	2.94926	0.3686575	0.000024517		
Analista 2	8	2.96441	0.37055125	0.00000000288125		
ANALISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00001434	1	0.00001434	1.14851	0.3019887	4.6001099
Dentro de los grupos	0.00017486	14	0.00001249			

También se realizó una **ANOVA 2** para comparar las medias de los resultados de los dos analistas para el lote de suturas de catgut crómicas de calibre 1 (**tabla 17**).

Tabla 17. Medias entre los 2 analistas en la determinación de cromo total en catgut crómico en las suturas calibre uno.

%CROMO TOTAL EN SUTURAS CALIBRE UNO	
ANALISTA 1 DÍA 1	ANALISTA 2 DÍA 2
0.30584	0.30581
0.30575	0.30575
0.30572	0.30578
0.30576	0.30584
0.30581	0.30599
0.30589	0.30593
0.30578	0.30581
0.30584	0.30581
Media = 0.30579875	Media = 0.30584
D. E. = 0.0000564263	D. E. = 0.0000801784
%C.V. = 0.018452106	%C.V. = 0.02621579

HIPOTESIS:

H_0 = Las medias entre los resultados son iguales.

H_1 = Las medias entre los resultados son diferentes.

En la **tabla 18** se puede observar que la $F = 1.141612$ es menor que el valor crítico para $F = 4.60011$, con un intervalo de confianza de 95% y el valor de p es mayor

que 0.05 ($p=0.2538317$ de las suturas calibre uno) así que se concluye que las medias entre los resultados son iguales (se acepta H_0). Lo que nos indica que no hay una diferencia significativa entre los resultados de los 2 analistas.

Tabla 18. ANOVA 2 de las suturas de calibre uno.

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Analista 1	8	2.44639	0.30579875	0.000000003184		
Analista 2	8	2.44672	0.30584	0.0000000006429		
ANALISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00000000681	1	0.0000000068	1.141612	0.2538317	4.60011
Dentro de los grupos	0.0000000673	14	0.0000000048			

6.3 Repetibilidad

En la **tabla 19** se observa desviación estándar entre cada uno de los resultados de % cromo total de cada lote de suturas catgut crómicas que analizó el analista 1. Los valores son casi idénticos y cumplen con las especificaciones de repetibilidad, porque los coeficientes de variación son menores a 7.0% (lote calibre cero el %C.V. es de 1.3 y para el lote calibre 1 el %C.V. es de 0.02).

Tabla 19. Resultados para el análisis de repetibilidad del analista 1.

	% CROMO TOTAL	
	Suturas de calibre cero	Suturas de calibre uno
Analista 1	0.36060	0.30584
	0.36053	0.30575
	0.37131	0.30572
	0.37145	0.30576
	0.37134	0.30581
	0.37134	0.30589
	0.37127	0.30578
	0.37142	0.30584
	Media	0.3686575
Desviación estándar	0.004995163	0.0000564263
% C.V	1.354960271	0.018452106

El analista 2 (**tabla 20**) cumplen con las especificaciones de repetibilidad porque los coeficientes de variación son menores a 7.0% (se obtuvo que el lote calibre cero el %C.V. es de 0.046 y para el lote calibre 1 el %C.V. es de 0.03).

Tabla 20. Resultados para el análisis de repetibilidad del analista 2.

	% CROMO TOTAL	
	Suturas de calibre cero	Suturas de calibre uno
Analista 2	0.37064	0.30581
	0.37053	0.30575
	0.37034	0.30578
	0.37042	0.30584
	0.37090	0.30599
	0.37049	0.30593
	0.37049	0.30581
	0.37060	0.30581
	Media	0.37055125
Desviación estándar	0.00016974	0.000080178
% C.V	0.04580809	0.02621579

6.4 Incertidumbre

La incertidumbre del resultado de una medición refleja la imposibilidad de conocer exactamente el valor del mensurando. El resultado de una medición tras la corrección de los defectos sistemáticos identificados es aún una estimación del valor del mensurando, dada la incertidumbre debida a los defectos aleatorios y a la corrección imperfecta del resultados por defectos sistemáticos. Siendo está el parámetro, asociados con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que pudieran ser razonablemente atribuidos al mensurando (valor de la magnitud particular bajo medición).

Tipos de errores o defectos que afectan el resultado:

- Errores aleatorios: incertidumbres debidas a numerosas causas imprevisibles que dan lugar a resultados distintos cuando se repiten las medidas.
- Errores sistemáticos: Equivocaciones debidas a métodos o instrumentos de medida inadecuados, cambiando las medidas en la misma dirección.

En la **figura 4** se muestran las fuentes de incertidumbre que se observaron en este método analítico.

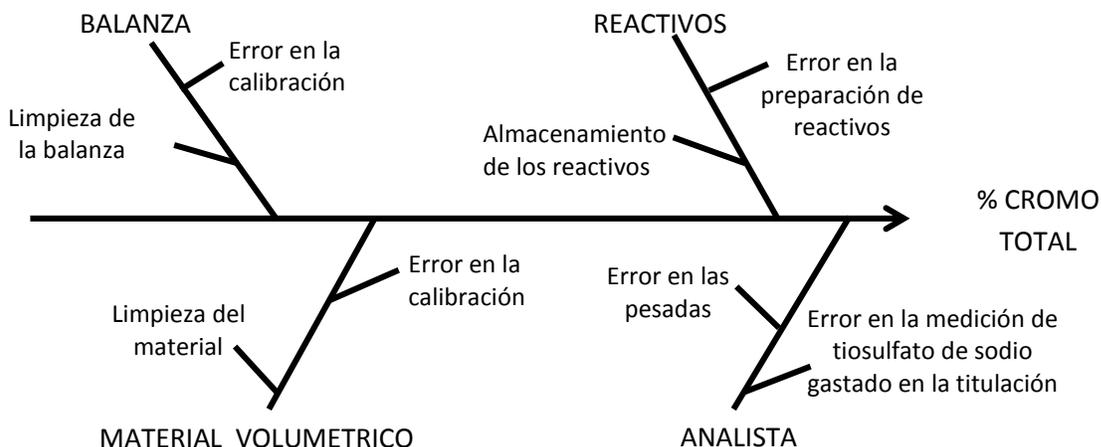


Figura 4. Diagrama de las fuentes de incertidumbre que se obtuvieron en el método.

Para satisfacer las necesidades de determinadas aplicaciones industriales y comerciales, la incertidumbre típica combinada U_c se multiplica por un factor de cobertura k , obteniéndose la denominada incertidumbre expandida U . El propósito de esta incertidumbre expandida U es proporcionar un intervalo en torno al resultado de medida, que pueda contener una gran parte de la distribución de valores que razonablemente podrían ser atributos a las mediciones. La elección del factor k , habitualmente comprendido entre los valores 2 y 3, se fundamenta en la probabilidad o nivel de confianza requerido para el intervalo. El cálculo de la incertidumbre combinada se realiza en función de la siguiente formula:

$$\text{Ecuación 1: } U_c = \sqrt{S_R^2 + U_1^2 + U_2^2 + U_3^2 \dots}$$

Dónde:

U_c = Incertidumbre combinada.

S_R = Desviación estándar de la reproducibilidad del método.

U^2 = Incertidumbre estándar de las fuentes de incertidumbre (equipos, materiales de referencia, instrumentos, condiciones ambientales).

El cálculo de la incertidumbre expandida se realiza con la siguiente formula:

$$\text{Ecuación 2: } U = k \times U_c$$

Dónde:

U = Incertidumbre combinada

k = factor de cobertura= 2

En la **tabla 21** podemos ver como se calcula la desviación estándar de la reproducibilidad de las mediciones del método:

Tabla 21. Reproducibilidad de los resultados entre analistas

% de contenido de cromo total en las suturas catgut crómicas				
	Analista 1 lote cero	Analista 2 lote cero	Analista 1 lote 1	Analista 2 lote 1
1	0.36060	0.37064	0.30584	0.30581
2	0.36053	0.37053	0.30575	0.30575
3	0.37131	0.37034	0.30572	0.30578
4	0.37145	0.37042	0.30576	0.30584
5	0.37134	0.3709	0.30581	0.30599
6	0.37134	0.37049	0.30589	0.30593
7	0.37127	0.37049	0.30578	0.30581
8	0.37142	0.37060	0.30584	0.30581
Media	0.3686575	0.37055125	0.30579875	0.30584
Desviación estándar	0.000169742	0.000169742	0.0000564263	0.0000801784
Promedio de las desviaciones estándar				0.000119022

En la **tabla 22** se muestra el valor de las fuentes de incertidumbre y el resultado de la incertidumbre expandida que es de ± 0.000515 que se obtuvo sustituyendo los datos de la incertidumbre estándar en las ecuaciones 1 (incertidumbre combinada) y 2 (incertidumbre expandida).

Tabla 22. Resultados de incertidumbre que afectan al método.

FUENTES DE INCERTIDUMBRE	INCERTIDUMBRE OBTENIDA DE TERCERIA	INCERTIDUMBRE ESTANDAR
Reproducibilidad de las mediciones por cambio de observadores.	N/A	0.000119022
Balanza analítica	0.00022	0.00011
Solución de Tiosulfato de sodio, valoración.	0.0004	0.0002
Incertidumbre estándar combinada (U_c)	N/A	0.00026
Incertidumbre expandida ($U=k*U_c$)	N/A	0.000515

Nota: Para el cálculo de este parámetro se tomó el promedio de las desviaciones estándar de la reproducibilidad de cada lote de suturas. La incertidumbre expandida se reporta con un factor de cobertura de $k=2$ y un nivel de confianza de 95%.

En la **tabla 23** se observa el promedio de los resultados obtenidos durante la verificación del método contenido de cromo total de suturas catgut crómicas. Ambos lotes cumplen con el límite establecido en el Suplemento de la FEUM (el lote de suturas catgut crómicas de calibre cero el resultado promedio es de

0.4±0.000515% de cromo total y el lote de suturas catgut crómicas de calibre uno el resultado promedio es de 0.3±0.000515% de cromo total), el criterio de aceptación que es de 0.2 a 0.7% de cromo total.

Tabla 23. Resultados considerando la incertidumbre.

% de Cromo total de las suturas catgut crómicas		
	Lote de suturas de calibre cero	Lote de suturas de calibre 1
1	0.36060	0.30584
2	0.36053	0.30575
3	0.37131	0.30572
4	0.37145	0.30576
5	0.37134	0.30581
6	0.37134	0.30589
7	0.37127	0.30578
8	0.37142	0.30584
9	0.37064	0.30581
10	0.37053	0.30575
11	0.37034	0.30578
12	0.37042	0.30584
13	0.37090	0.30599
14	0.37049	0.30593
15	0.37049	0.30581
16	0.37060	0.30581
Media	0.4±0.000515	0.3±0.000515
Criterio de aceptación: De 0.2 a 0.7% de cromo total	Cumple el criterio de aceptación	Cumple el criterio de aceptación

7. CONCLUSIONES

La verificación de un método de análisis **Contenido de cromo total para suturas de catgut crómico** cumple con los requisitos particulares para su uso propuesto, así como características de los parámetros de verificación recomendados en las guías del Colegio nacional de químicos farmacéuticos biólogos México, A. C. y en la FEUM 11° Ed., Tomo II.

Las suturas catgut crómicas analizadas para esta verificación del método, obtuvieron un porcentaje de cromo total de: $0.4 \pm 0.000515\%$ en el lote calibre cero y de $0.3 \pm 0.000515\%$ en el lote calibre uno y cumplen con el límite de 0.2 a 0.7% de cromo total que se establece en el Suplemento de la FEUM, 11° Edición, 2013 de México y por lo tanto son seguras para la salud.

8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Juliana Buitrago Jaramillo, MD., MSc. Materiales de sutura. Fecha de consulta: 20-marzo-2017.
blog.utp.edu.co/cirugia/files/2011/07/Materiales-de-Sutura2.pdf
- [2] Catálogo de suturas Médicas. Suturas Medical LLC. Grupo Empresarial INMASERCA, S.A. Fecha de consulta: 20-marzo-2017.
- [3] NORMA Oficial Mexicana. NOM-137-SSA1-2008. Etiquetado de dispositivos médicos. Fecha de consulta: 22- agosto-2017.
dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5074071&fecha=12/12/2008
- [4] Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “Aspectos generales sobre la validación de métodos”. Instituto de salud pública, Santiago, Diciembre de 2010. Fecha de consulta: 04- marzo-2017.
http://www.academia.edu/7082922/Guia_Tecnica_1_validacion_de_Metodos_y_de_terminacion_de_la_incertidumbre_de_la_medicion_1
- [5] Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos. Naciones Unidas, Nueva York, 2010.
- [6] Criterios para la validación de Métodos Físicoquímico. Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura.
- [7] Tesis: Perfil del QFB en el Sector de Dispositivos Médicos. Presentada por Sandy Martínez Martínez, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 2014.
- [8] Reglamento Técnico Centroamericano. Producto Farmacéutico. Validación de Métodos analíticos de los Medicamentos. RTCA 11.03.39:06.
- [9] Norma ISO 17025-1999. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
- [10] Suplemento de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 11° Edición, 2013 de México, páginas 717 a la 720.
- [11] ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. November 2005.
- [12] Guía de Validación de Métodos Analíticos. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biológicos México, A.C. Edición 2002.
- [13] Louis d’Hainaut, Calculo de incertidumbres en las medidas, Editorial Trillas, México 1987.

[14] Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 11° Edición; Tomo II, páginas 2790 a la 2799.

[15] Principles of toxicology: environmental and industrial applications. Ed. by Phillip L., Robert C. James, Stephen M. Roberts. 2ND Ed., New York 2000 pagina 148.

[16] Industrial toxicology: Safety and health applications in the workplace, Ed by Phillip I. and James I. Burson, New York, Van Nostrand Reinhold, 1985, pag. 314

[17] La Adecuación al Uso de los Métodos Analítico. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. Eurachem.

[18] Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. Centro Nacional de Metrología. México, Abril de 2008.

[20] NORMA Oficial Mexicana. NOM-240-SSA1-2012. Instalación y operación de la tecnovigilancia.

[21] Gary D. Christian, Química Analítica, Sexta edición, Editorial Mc Graw Hill, páginas 424 a la 426.