

24/127

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



ESTUDIO DE ESTABILIDAD COMPARATIVA DE UNA SOLUCION DE YODO-POVIDONA EN DOS DIFERENTES CONTENEDORES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A

MARCELA VALES LOPEZ

MEXICO, D. F.

1987



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 está 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.

ESTUDIO DE ESTABILIDAD COMPARATIVA DE UNA SOLUCION DE
YODO-POVIDONA EN DOS DIFERENTES CONTENEDORES

C O N T E N I D O

		PAG
CAPITULO I	INTRODUCCION	1
CAPITULO II	GENERALIDADES	3
	HISTORIA	3
	ESTRUCTURA QUIMICA	4
	METODOS DE FABRICACION	6
	APLICACIONES TERAPEUTICAS	6
	MECANISMO DE ACCION	9
	TOXICOLOGIA	11
	FACTORES QUE AFECTAN LA ESTABILIDAD	
	DEL PRODUCTO	12
	PRODUCTOS DE DEGRADACION	13
CAPITULO III	PARTE EXPERIMENTAL	15
	DISEÑO DEL EXPERIMENTO	15
	RESULTADOS	17
CAPITULO IV	DISCUSION	47
CAPITULO V	RESUMEN	49
CAPITULO VI	CONCLUSIONES	50
CAPITULO VII	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	51

C A P I T U L O I
I N T R O D U C C I O N

El producto farmacéutico estudiado fue una solución de yodopovidona al 8%. Es una solución microbicida de acción inmediata y prolongada contra bacterias, virus, hongos y protozoarios (1). Este producto está indicado en el lavado de heridas, de abrasiones leves, en el lavado prequirúrgico de manos y antes de cualquier manipulación médica y quirúrgica (1,2). Actualmente esta solución antiséptica se comercializa en frasco de vidrio color ámbar pero por razones económicas, se pretende cambiar su envase primario por uno de polietileno de alta densidad.

La calidad de un medicamento puede verse alterada por el cambio de su contenedor, no solamente por el tipo de material usado sino también por el contenedor específico. Las diferencias en geometría, terminado, grosor de la pared y concentración del pigmento pueden alterar la estabilidad del producto (3).

Por esta razón, los programas de aseguramiento de la calidad se proponen desarrollar e implementar sistemas y procedimientos que proporcionen una alta probabilidad de que cada empaque o dosis de un producto farmacéutico mantenga sus características y propiedades, dentro de límites razonablemente aceptados, que aseguren la eficacia y seguridad clínica de la formulación (4).

En la presente investigación se propuso, por lo tanto, evaluar en forma comparativa la estabilidad de la solución de yodo-

povidona al 8% envasada en dos diferentes contenedores.

C A P I T U L O I I

G E N E R A L I D A D E S

HISTORIA

Siglos antes de las investigaciones básicas de Pasteur, Koch y otros, que establecieron la patogenicidad de las bacterias, ya se usaban sustancias químicas para controlar la supuración de heridas y la difusión de enfermedades contagiosas. Entre estas sustancias se encuentran los antisépticos y desinfectantes.

Los antisépticos son agentes químicos que se usan con el propósito de inhibir la reproducción de microorganismos, evitando de esta manera, una posible infección. Se aplican, generalmente, en tejidos humanos y animales. Un desinfectante es un agente químico que tiene la misma función del antiséptico pero su uso es en objetos o cosas (5).

Algunos agentes usados empíricamente por su acción microbicida durante el siglo XIX aún se emplean en la actualidad, por ejemplo, el yodo se usaba para tratar heridas varias décadas antes de sospecharse la etiología bacteriana de la supuración.

Dada la ligera solubilidad del yodo en agua (6) se prefirió usar alcohol como disolvente. Estas preparaciones alcohólicas, aunque efectivas, tenían la desventaja de sufrir variación en la concentración de yodo debido a la evaporación del disolvente y en el caso de incrementar la cantidad de aquél se corría el riesgo de causar irritación severa a los ojos, piel y membranas mucosas.

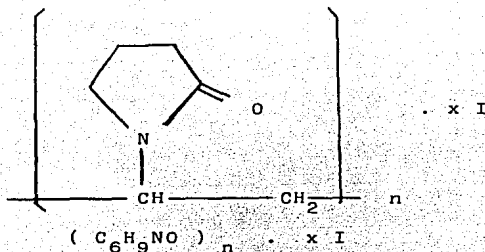
Estos problemas se solucionaron preparando soluciones acuosas de yodo en las que la especie hidrosoluble triyoduro se genera por la adición de yoduro a la solución de yodo. Se prefirió utilizar las diluciones en agua dado que sus concentraciones no variaban como en las tinturas, además de que eran menos irritantes. Pero aún en estas preparaciones, la aplicación a la piel comúnmente causaba inflamación local y en algunos casos provocaba reacciones de hipersensibilidad.

En la década de 1950 se empezaron a usar soluciones yodóforas en sustitución de las preparaciones acuosas de yodo. Un yodóforo es un complejo inestable de yodo elemental con un portador o transportador que sirve no sólo para aumentar la solubilidad del yodo sino también para constituir un reservorio de liberación sostenida del elemento. Las sustancias portadoras de yodo son polímeros neutros. El yodóforo más usado es la yodo-povidona cuya molécula de transporte es la polivinilpirrolidona (7).

ESTRUCTURA QUIMICA

Nombres químicos: Complejo de yodo-polivinilpirrolidona
Complejo de yodo y el polímero de
1-vinil-2-pirrolidinona (2)

Fórmula:



Nombres triviales: Yodo-polividona

Yodo-povidona

Desde 1955 en que se preparó el complejo de yodo-povidona se ha tratado de definir la estructura química de esta sustancia en solución.

Estudios de espectrofotometría ultravioleta-visible y equilibrio por diálisis revelan que la yodo-povidona en solución acuosa se caracteriza por la presencia de las especies libres yodo I_2 , yoduro I^- y triyoduro I_3^- y un complejo polimérico yodo-yoduro $\text{P}(\text{I}_2)_x \text{I}^-$ de composición variable.

Otro modelo muestra un ion triyoduro en la cavidad de una cadena de PVP doblada en una conformación helicoidal. Cada vuelta de la hélice consiste de 15 unidades poliméricas alrededor de una molécula de yodo (9). Otros autores, sin embargo, opinan que la interacción no es entre el I_3^- y la PVP, sino entre el yodo elemental I_2 y el polímero (8).

Schenck y col., usando cristalografía de rayos X, sugieren

una estructura de la yodo-povidona en polvo que contiene un enlace de hidrógeno entre los oxígenos de los carbonilos de dos anillos de pirrolidona y un anión triyoduro unido iónicamente a esa unidad catiónica (1).

Los esfuerzos para elucidar el estado del soluto yodo-povidona en solución acuosa son numerosos, pero aún está por determinarse una estructura definitiva debido a la complejidad de la química del yodo en agua que se agrava con la formación del complejo con povidona.

MÉTODOS DE FABRICACION

El complejo polimérico se produce por tratamiento de una mezcla mecánica de polivinilpirrolidona (PVP) y yodo a temperatura elevada hasta que la proporción molar de yodo-yoduro, I_2/I^- , es cercana a la unidad, donde un tercio del yodo inicial se transforma en yoduro por procesos reductivos; o tratando el polímero con cantidades apropiadas de I_2 y ácido yodhídrico HI o yoduro de potasio KI, a temperatura normal (8).

APLICACIONES TERAPEUTICAS

La yodo-povidona es altamente efectiva contra agentes que causan enfermedades al hombre, animales inferiores y plantas. Mantiene la acción rápida y de amplio espectro del yodo elemental contra bacterias, virus, hongos, esporas, protozoarios y levaduras. Se ha demostrado su eficacia en el control de algunos insectos.

tos, helmintos y nemátodos.

Se ha probado clínicamente en todo tipo de aplicaciones tópicas en medicina humana y veterinaria: antiséptico de heridas, abrasiones, mordeduras de insectos, atomizador para heridas, shampoo anticaspa, banda adhesiva medicada, solución para gárgaras, ducha, jalea vaginal y polvo antiséptico. Se emplea como solución al 8% para uso bucofaríngeo y tópico y al 10% para uso vaginal (10).

La yodo-povidona como agente desinfectante ha tenido gran aplicación durante los últimos 25 años y la literatura es extensa. Por ejemplo, la revisión crítica de Peterson (11) presenta que existen no menos de 16 escritos acerca del uso antimicrobiano de la yodo-povidona que acreditan la baja toxicidad, baja irritación y actividad terapéutica a diferentes concentraciones de yodo disponible. La concentración de yodo disponible más baja es la de 7.5 ppm necesaria para destruir la forma vegetativa de la especie Bacillus entre 10 y 30 segundos. La concentración máxima de yodo disponible de este reporte es de 10,000 ppm para destruir en 2-5 horas las esporas de Bacillus y Clostridium.

Importantes investigaciones realizadas por Berkelman y col. (12) apoyan la hipótesis de que el yodo libre I_2 es el principal agente bactericida de las soluciones yodóforas. Estos autores demostraron que las diluciones de las soluciones de yodo-povidona al 10% presentan una acción bactericida más rápida que la misma solución de yodo-povidona al 10%; al aumentar las diluciones los

niveles de yodo libre se incrementaron y se correlacionaron directamente con la actividad bactericida in vitro.

Estos estudios se asemejan a las observaciones de Favero y col. (13) de esporas secas de Bacillus subtilis var. niger que fueron inactivadas más rápidamente al incrementarse la dilución de la solución de yodo-povidona.

Anderson y col. (14) estudiaron además el efecto en la actividad bactericida de la adición de yoduro de potasio a las soluciones de yodo. Experimentaron con 6 y 12.4 g de yoduro de potasio por litro de solución concentrada (al 10% de Yodo-PVP), concluyendo que esta adición provoca una disminución en la actividad germicida de la solución debido a un decremento del yodo libre o molecular. Los autores establecen la posibilidad de que se compruebe la seguridad y eficacia de nuevas formulaciones conteniendo menos del 1% de yodo, lo que provocaría notables ahorros financieros.

Con el fin de evaluar la actividad terapéutica de esta sustancia, se han diseñado una extensa variedad de procedimientos que revelen cuantitativamente las propiedades del producto en condiciones clínicas normales, tales como lavar las manos cepillando, lavarlas a chorro de agua, lavar las manos con esponja, usar placas de contacto y algunos otros. LaRocca (15) revela que existe un problema microanalítico complejo con respecto a los procedimientos para evaluar la actividad terapéutica de este principio activo y de los yodóforos. A pesar de estas dificultades, la ex-

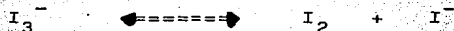
perencia ha demostrado la alta efectividad de las soluciones de yodo-povidona como antiséptico y como desinfectante.

MECANISMO DE ACCION

Los procesos por los que se libera el yodo del complejo cuando el soluto está en solución acuosa no se han definido aún, ya que varias reacciones suceden simultáneamente reestableciendo su equilibrio en fracciones de segundo.

Estas reacciones de la química del yodo se explican con detalle en la sección "Productos de Degradación" del presente trabajo. Mientras tanto, para entender el mecanismo de acción terapéutica de la yodo-povidona se debe partir del concepto de que el yodo disponible o formando un complejo es un reservorio de yodo activo o libre, el cual se va liberando del complejo PVP- I_3^- conforme se consume en la actividad terapéutica el yodo activo.

El yodo se encuentra libre de varias formas, siendo tres las más importantes: el yodo elemental I_2 , el yoduro I^- y el triyoduro I_3^- de acuerdo al siguiente equilibrio:



Este equilibrio está en función del pH, de la concentración de la solución, de la temperatura y del disolvente. Cuando se ajustan todos estos parámetros y se deja reposar el material, se observa un equilibrio donde la razón de la asociación y disociación se vuelve una constante. Si por alguna razón el equilibrio de la solución se altera, la reacción se realizará de tal manera

que elimine dicha alteración; por lo tanto, si el yodo libre disminuye, se liberará más yodo de la reserva disponible. La velocidad de asociación y disociación es extremadamente rápida ocurriendo en unos milisegundos y por lo tanto, siempre hay I_2 para la actividad antiséptica (8).

Diferentes investigaciones cuantitativas demuestran la incapacidad bactericida y esporocida de la especie triyoduro (16), mientras que otras demuestran que el yodo molecular libre I_2 es la especie activa.

Esta idea generalizada de que el yodo libre molecular es el responsable de la actividad antiséptica de las soluciones que contienen yodo, se debe a las reacciones que esta especie lleva a cabo con diversos elementos celulares y sanguíneos tales como carbohidratos, vitaminas, aminoácidos, lípidos y bicarbonato las cuales se pueden ejemplificar como sigue (17):

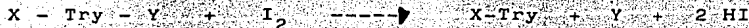
Reacciones de Oxido-Reducción:



(R = ascorbato, sulfhidrilo, glucosa, metionina, triptofano)



3) El I_2 oxida las uniones peptídicas del triptofano:



Reacciones de Yodación:



Rutherford (18) explica que debido a que el 89% del complejo se encuentra en forma de povidona sin estar combinada con el yodo, la yodo-povidona presenta las mismas propiedades de la PVP. Al disociarse el complejo PVP- HI_3 realmente se transforma de complejo polimérico a polielectrolito catiónico que es atraído por la pared celular microbiana cargada negativamente, actuando de esta manera como agente floculante de bacterias. Una vez unida la PVP a las proteínas se libera el yodo en la pared celular.

Estas dos hipótesis se pueden relacionar entre sí como una secuencia de reacciones en la que primero se forma el polielectrolito catiónico que es atraído a la célula microbiana y después se libera el yodo que participa en reacciones de oxidación, reducción y yodación de los elementos celulares con la consecuente inactivación microbiana.

TOXICOLOGIA

La yodo-povidona tiene baja toxicidad sistémica y no produce irritación apreciable al tejido de los mamíferos. No causa sensibilidad ni dolor severo cuando se aplica a las heridas o membranas mucosas. Además, la yodo-povidona forma películas que protegen las heridas abiertas; dichas películas se pueden lavar con agua sin dejar mancha permanente en la piel ni en las fibras naturales (19)

La yodo-povidona per se es poco tóxica para los tejidos pero el detergente en las soluciones limpiadoras (fricciones quirúrgicas) aumenta considerablemente la toxicidad. Penetra en la escara

de los pacientes lo cual es terapéuticamente ventajoso, pero también se absorbe desde la superficie quemada causando concentraciones plasmáticas elevadas de yodo que pueden ser la causa de intoxicaciones ocasionales (7).

Con el fin de estudiar los efectos de una concentración plasmática elevada de yodo, Lautier y col. (19) realizaron la prueba oficial de irritación cutánea en cuyos, aplicando una solución comercial de yodo-povidona. Los animales presentaron notables cambios de comportamiento así como un aumento en la concentración de las hormonas triyodotironina T_3 y tiroxina T_4 , que ocasionó que la glándula pituitaria disminuyera su producción de TSH (hormona estimulante de la tiroides).

A pesar de que existen mecanismos fisiológicos que protegen al organismo de las acumulaciones excesivas de yodo, por ejemplo la eliminación por medio de los riñones, pulmones, glándulas sudoríparas y en forma metabolizada por el tracto intestinal, Knolle y col. (2) opinan también que las altas dosis de yodo pueden ocasionar reacciones secundarias como las expuestas anteriormente. Como medida precautoria se sugiere no usar este producto en pacientes con gota o en grandes áreas en que la piel no mantenga su integridad.

FACTORES QUE AFECTAN LA ESTABILIDAD DEL PRODUCTO

a) Temperatura: la liberación de yodo disponible del complejo se incrementa conforme aumenta la temperatura. El producto

pierde su integridad física a temperaturas superiores a 50° C.

b) pH : la efectividad microbicida del principio activo disminuye bajo condiciones alcalinas (2).

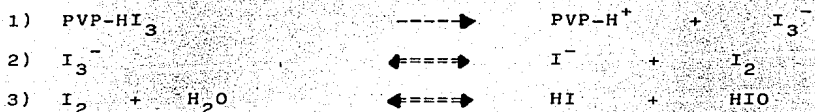
c) Luz : la formulación ensayada es estable al efecto de la luz solar y ambiental (21).

PRODUCTOS DE DEGRADACION

La química de la yodo-povidona ha sido extensamente estudiada desde que se preparó por primera vez hace más de 30 años sin que por esto se haya definido su estructura química. Esta situación, aunada a la complejidad de la química del yodo, hace más difícil establecer todas las reacciones de degradación que se llevan a cabo cuando el soluto de yodo-povidona está disuelto en agua. Por estas mismas razones, el mecanismo de acción de las preparaciones de yodo-povidona aún no está aclarado y por el momento existen sólo hipótesis.

Diversos investigadores concuerdan con el siguiente mecanismo de reacción de degradación (8, 18, 20) : el complejo yodo-povidona se puede representar como $PVP-HI_3$ el cual al disolverse en agua se disocia en $PVP-H^+$ y triyoduro I_3^- dando al complejo un carácter de polielectrolito catiónico. El triyoduro se disocia en yoduro y yodo molecular y éste por hidrólisis genera ácido yodhídrico y ácido hipoyodoso. Paralelamente a estas reacciones otras muchas se llevan a cabo reestableciéndose su equilibrio en fracciones de segundo.

Estas reacciones se representan por las siguientes ecuaciones:



Como se puede observar no se puede decir que existe un solo producto de degradación ya que éste se está transformando continuamente en otros más, incluyendo la especie terapéuticamente activa, yodo molecular I_2 .

C A P I T U L O I I I
P A R T E E X P E R I M E N T A L

DISEÑO DEL EXPERIMENTO

En el desarrollo de esta investigación, después de definir el problema, plantear la hipótesis y conocer el fundamento teórico, fue necesario diseñar un plan de trabajo que comprendió la parte experimental y el manejo de resultados.

En la parte experimental están comprendidos los métodos de estudio, el material de estudio y el equipo utilizado. El método para evaluar la estabilidad de la solución de yodo-povidona al 8% fue un método acelerado con fundamento en la Teoría de Arrhenius (23) y el método analítico empleado fue la cuantificación de yodo disponible de acuerdo a las especificaciones de la U.S.P. XIX (6).

En cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura que se aplican a estabilidad de productos farmacéuticos que establecen que debe determinarse mediante métodos analíticos específicos, confiables y significativos (4), se procedió a realizar la validación del método para cuantificar yodo disponible en el producto estudiado.

A continuación se determinó el orden de reacción de degradación de la solución de yodo-povidona al 8% sometiendo una muestra del lote comercial núm. 602214 a 60° C durante un mes, envasada tanto en frasco de vidrio color ámbar como en frasco de polietileno de alta densidad color natural.

Con la información obtenida se diseñó el siguiente programa de estabilidad:

<u>Condiciones de Almacenaje.</u>	<u>Tiempos de Análisis</u>
20° C ± 2° C *	0, 30, 60 y 90 días
40° C	15, 30, 45, 60 y 90 días
50° C	15, 30, 45, 60 y 90 días

* Temperatura ambiental del laboratorio.

El material de estudio se obtuvo de la línea de fabricación. Consistió de tres diferentes lotes comerciales cuyos números fueron: 609200, 610201 y 610202. El producto se envasó en frasco de vidrio color ámbar de 125 ml de capacidad con tapa de polipropileno blanco con empaque de cartón y vinilite; y en frasco de polietileno de alta densidad color natural de 125 ml de capacidad con tapa de polipropileno blanco sin empaque. El número de frascos de cada tipo dependió del programa de estabilidad. Los frascos de vidrio así como los de polietileno se introdujeron en forma simultánea en las estufas de temperatura controlada (40° y 50° C) durante el tiempo especificado en el programa de estabilidad.

Los parámetros evaluados fueron: apariencia, color, olor, aspecto físico del envase, cambio en peso, pH y concentración de yodo disponible. La apariencia, color y olor característicos del producto se evaluaron por simple comparación con el producto a temperatura ambiente. La evaluación del aspecto físico de los dos tipos de envases consistió en detectar dilatación, absorción de

material, fisuras o derramamiento del producto. El pH y la concentración de yodo disponible se determinaron de acuerdo a como lo indica el método farmacopeico (6).

RESULTADOS

Los resultados de esta investigación se presentan en el siguiente orden: resultados de la validación del método analítico: especificidad, exactitud en la Tabla 1, linealidad en la Tabla 2 y precisión en las Tablas 3 y 4. A continuación se encuentran los resultados cinéticos a partir de los cuales se determinó el orden de la reacción de degradación de la solución de yodo-povidona al 8%, Tabla 5, con sus correspondientes gráficas 2 y 3.

Todos los parámetros evaluados se concentran en una tabla denominada "Resumen de Resultados", específica para cada lote de producto y para cada envase ensayado. Posteriormente se incluyen las gráficas de logaritmo de la concentración remanente de yodo disponible en función del tiempo para cada temperatura así como la Gráfica de Arrhenius. Las tablas y sus respectivas gráficas están ordenadas por número de lote 609200, 610201 y 610202.

Considerando los resultados de estabilidad química y la Gráfica de Arrhenius, se calcularon los parámetros cinéticos: energía de activación, constante de velocidad de reacción extrapolada para 25° C, vida de anaquel y tiempo de vida media (22, 23). Los valores de estos parámetros cinéticos se presentan en la Tabla 12.

En la Tabla 13 se agrupan los cálculos de la concentración final, en % de etiqueta, que se obtendría después de dos años y la Tabla 14 agrupa los cálculos del tiempo al cual se obtendría el 90% de la concentración etiquetada considerando en ambos casos que el producto se fabrica con 20% de exceso de yodo-povidona.

VALIDACION DEL METODO ANALITICO

Especificidad.- partiendo de la definición, al validar un método analítico con aplicación a estudios de estabilidad se espera que éste sea capaz de cuantificar ya sea la molécula intacta o bien alguno de sus productos de degradación aún en presencia de otras sustancias como pueden ser los excipientes o sus productos de degradación.

Para detectar la posibilidad de que los excipientes o los productos de degradación de éstos interfirieran en la cuantificación de yodo disponible, se sometieron muestras de placebo a degradación crítica, esto es, a 60° C durante un mes. Se analizaron por el método farmacopeico (6) y se comprobó que no existía alguna interferencia de este tipo.

Los productos de degradación de la yodo-povidona son las especies yodo molecular I_2 y triyoduro I_3^- , en estado libre ambas. Al mismo tiempo, estas especies se encuentran formando el complejo y son las que participan en la reacción con tiosulfato de sodio al cuantificar yodo disponible. El aislamiento de las especies libres de las que están formando el complejo se ha intentado

durante varios años y por diversas técnicas, sin que alguna cumpla todos los requisitos de un método analítico indicativo de estabilidad (8, 9, 24).

Investigaciones recientes respecto a este punto (8) indican que la estabilidad de las soluciones de yodo-povidona se evalúa mundialmente mediante el ensayo de yodo disponible y que mientras no exista un método oficial, este es válido con dicha finalidad.

Exactitud.- para determinar la exactitud del método se analizaron por quintuplicado muestras conteniendo una cantidad constante de placebo adicionadas con diferentes cantidades de yodo-povidona correspondientes al 25, 50, 75, 100 y 125% de la cantidad etiquetada. La evaluación de la exactitud se llevó a cabo considerando los datos de porcentaje recobrado, analizándolos matemáticamente por medio de la prueba de "t" (25).

Del análisis de estos datos, Tabla 1, se aprecia que el valor de la t experimental está dentro del criterio de aceptación. Estos resultados son evidencia de la exactitud del método.

Linealidad.- para comprobar si la respuesta del método corresponde a una función lineal se analizaron muestras conteniendo una cantidad constante de placebo adicionadas con diferentes cantidades de yodo-povidona correspondientes al 25, 50, 75, 100 y 125% del etiquetado. Los resultados se muestran en la Tabla 2 y la gráfica respectiva es la Gráfica 1. Como se observa, el valor

de t experimental está dentro del criterio de aceptación, por lo que el método es lineal (25).

Precisión. - se evaluó la reproducibilidad del método analizando el lote fabricado con la concentración de yodo-povidona correspondiente al 100% de lo etiquetado. Participaron dos analistas en dos diferentes días. Los datos se analizaron por medio de un análisis de varianza en base al siguiente modelo (25):

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + D_j + AD_{ij} + E_{ijk}$$

donde:

Y_{ijk} = valor correspondiente al i -ésimo analista en el j -ésimo día para la k -ésima repetición

μ = media general

A_i = efecto del i -ésimo analista

D_j = efecto del j -ésimo día

AD_{ij} = efecto de la interacción analista-día

E_{ijk} = error experimental

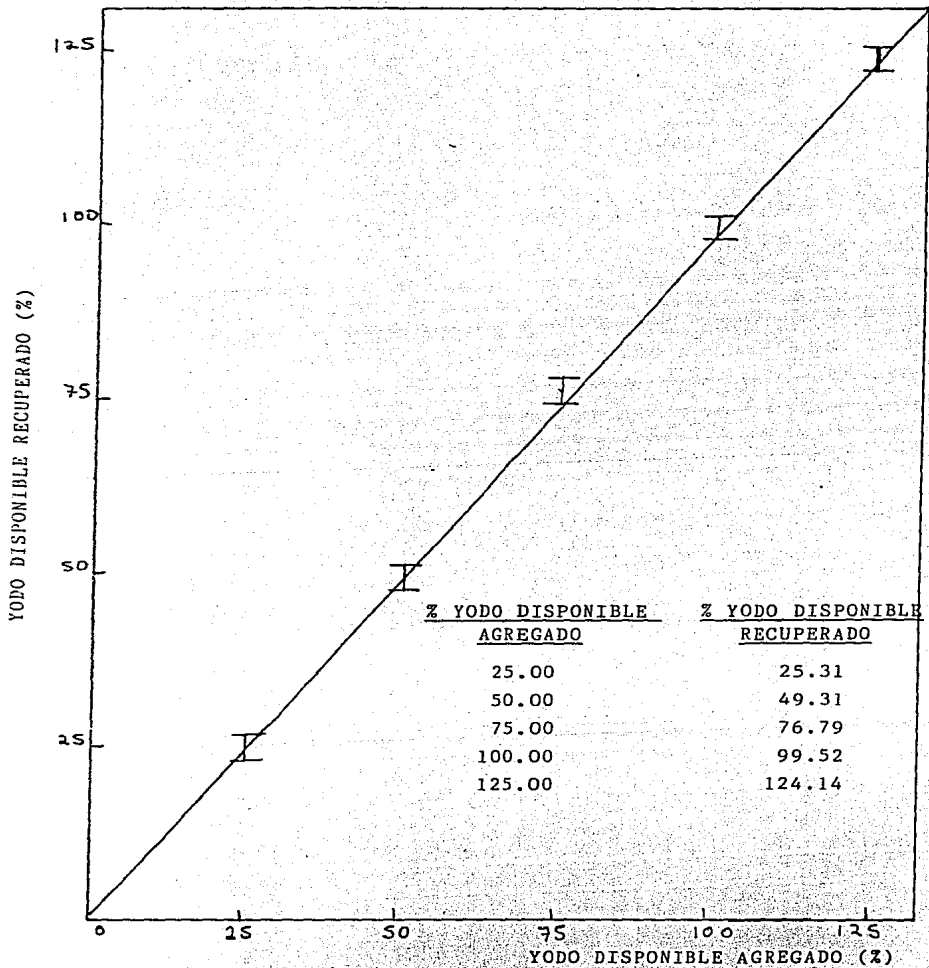
Los resultados se muestran en las Tablas 3 y 4 y se probaron empleando la prueba estadística de F . Ahí se observa que los valores de F calculada son menores que la F teórica a un nivel de significancia de 0.05 lo cual evidencia la precisión del método.

TABLA No. 1
EXACTITUD DEL METODO VOLUMETRICO PARA
CUANTIFICAR YODO DISPONIBLE

Número de determinaciones, n :	25
Media aritmética, x :	100.21%
Desviación estandar, S :	1.6358%
Error estandar :	0.3272
t experimental :	0.5418
t (0.95, 24) :	± 2.064
Límites de Confianza 95% :	99.54% a 100.39%

TABLA No. 2
LINEARIDAD DEL METODO VOLUMETRICO PARA
CUANTIFICAR YODO DISPONIBLE

Número de determinaciones, n:	25
Coficiente de correlación, r :	0.9981
Coficiente de determinación, r ² :	0.9962
Ordenada al origen :	0.0067
t experimental ordenada :	0.1752
Límites de Confianza 95% ordenada :	0.0724 a 0.0858
Pendiente :	0.9842
t experimental pendiente :	0.2493
Límites de Confianza 95% pendiente :	0.8531 a 1.1154
t (0.95, 23) :	± 2.069
Error de regresión :	0.0183



GRAFICA No. 1
LINEARIDAD DEL METODO ANALITICO

TABLA No. 3
 RESULTADOS DE REPRODUCIBILIDAD DEL METODO
 VOLUMETRICO PARA CUANTIFICAR YODO DISPONIBLE

D I A	A N A L I S T A	
	1	2
1	92.75	94.89
	95.84	97.62
	93.52	98.15
2	91.54	93.65
	92.76	94.02
	91.97	93.13

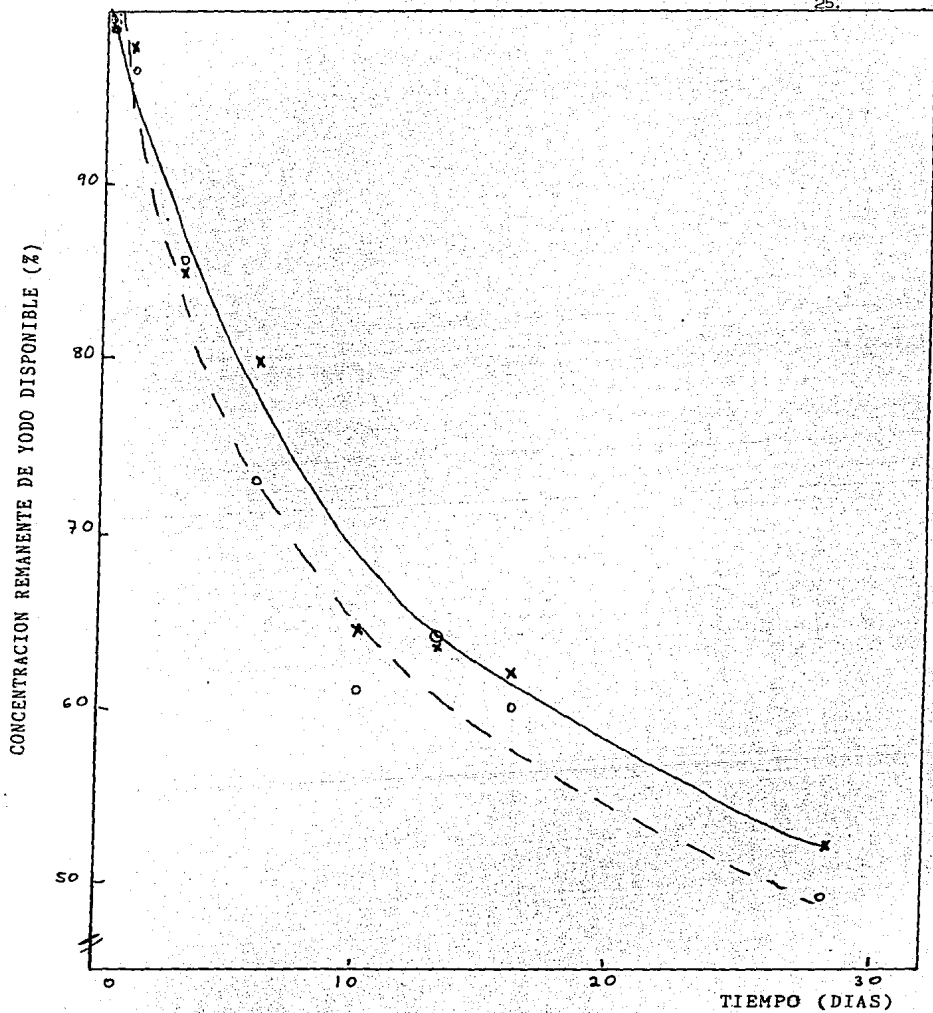
TABLA No. 4
 REPRODUCIBILIDAD DEL METODO VOLUMETRICO PARA
 CUANTIFICAR YODO DISPONIBLE

<u>Fuente de Variación</u>	<u>G.L.</u>	<u>CUADRADO</u> <u>MEDIO</u>	<u>F. EXP.</u>	<u>F teórica</u> <u>(0.05)</u>
Analista	1	14.25	10.59	161
Día	1	20.54	15.25	161
Analista-día	1	1.35	0.10	5.32
Error	8	13.18		

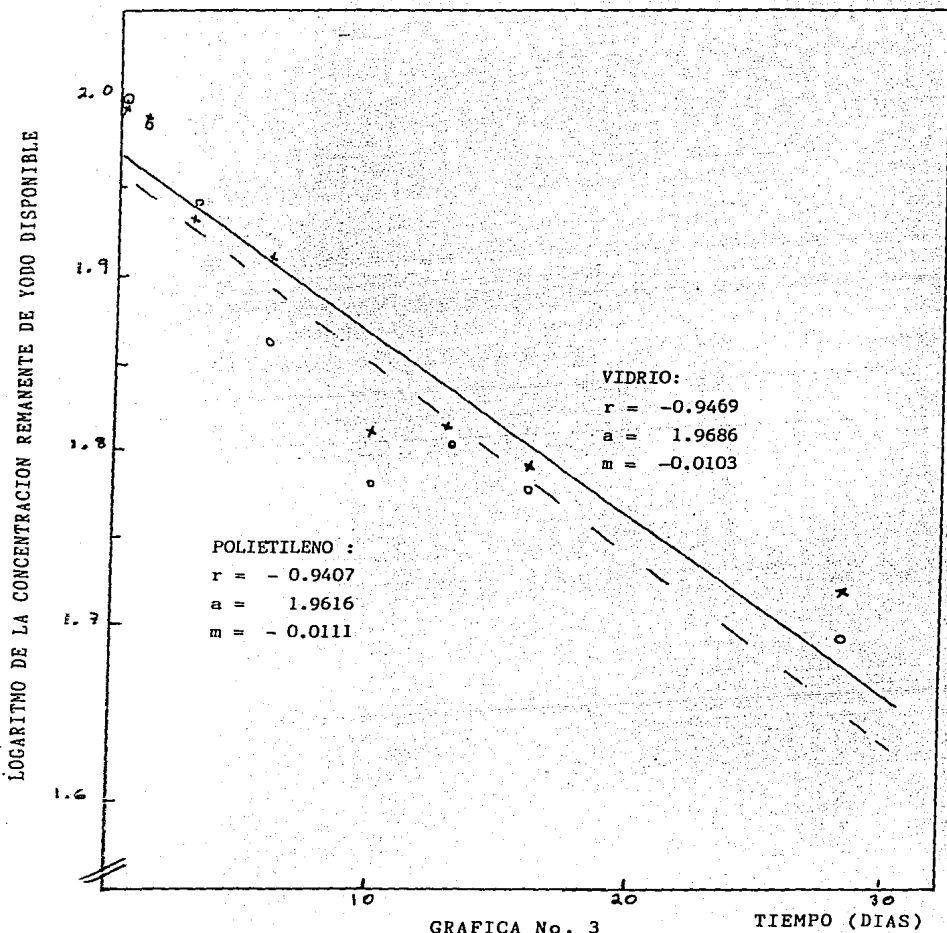
TABLA No. 5
 DETERMINACION DEL ORDEN DE REACCION DE
 LA SOLUCION DE YODO-POVIDONA AL 8%
 A 60° C

E N V A S E				
VIDRIO			P. A. D. *	
TIEMPO DIAS	CONC. I ₂ %	DISP. log CONC.	CONC. I ₂ %	DISP. log CONC.
0	100.00	2.0000	100.00	2.0000
1	97.69	1.9899	96.44	1.9843
3	85.30	1.9309	86.27	1.9359
6	80.55	1.9061	72.47	1.8502
10	64.46	1.8093	60.62	1.7826
13	64.14	1.8071	64.14	1.8071
16	62.02	1.7925	59.93	1.7776
28	52.27	1.7183	48.58	1.6865

* P.A.D. = polietileno de alta densidad



GRAFICA No. 2
 GRAFICA DE CERO ORDEN PARA LA DEGRADACION DE LA SOLUCION DE YODO-POVIDONA
 AL 8%. LOTE 602214. 60° C.
 CLAVE: x — VIDRIO; o — POLIETILENO



GRAFICA DE PRIMER ORDEN PARA LA REACCION DE DEGRADACION DE LA SOLUCION DE YODO-POVIDONA AL 8%. LOTE 602214. 60° C.
 CLAVE: x ——— VIDRIO; o - - - - POLIETILENO

PRODUCTO:
 LOTE NO.:
 ENVASE:

SOLUCION DE YODO-POVIDONA AL 8%
 609200
 VIDRIO AMBAR

T A B L A 6
 RESUMEN DE RESULTADOS

PARA - METRO	TEMPERATURA AMBIENTE				40° C					50° C				
	0 días	30	82	90	15	30	45	82	90	15	30	45	82	90
Apariencia	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Color	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Olor	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Evaluación del envase	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
pH	5.24	4.60	4.74	4.74	4.50	4.62	4.71	4.84	4.81	4.47	4.66	4.71	4.86	4.80
% cambio en peso	-	-	-	0.01	-	-	-	-	0.40	-	-	-	-	0.73
% yodo disponible	100.00	98.07	97.34	97.86	94.42	91.75	87.09	82.24	78.59	94.74	73.40	63.16	51.06	50.53

S = SATISFACTORIO

Febrero 1987

PRODUCTO:
 LOTE No.
 ENVASE:

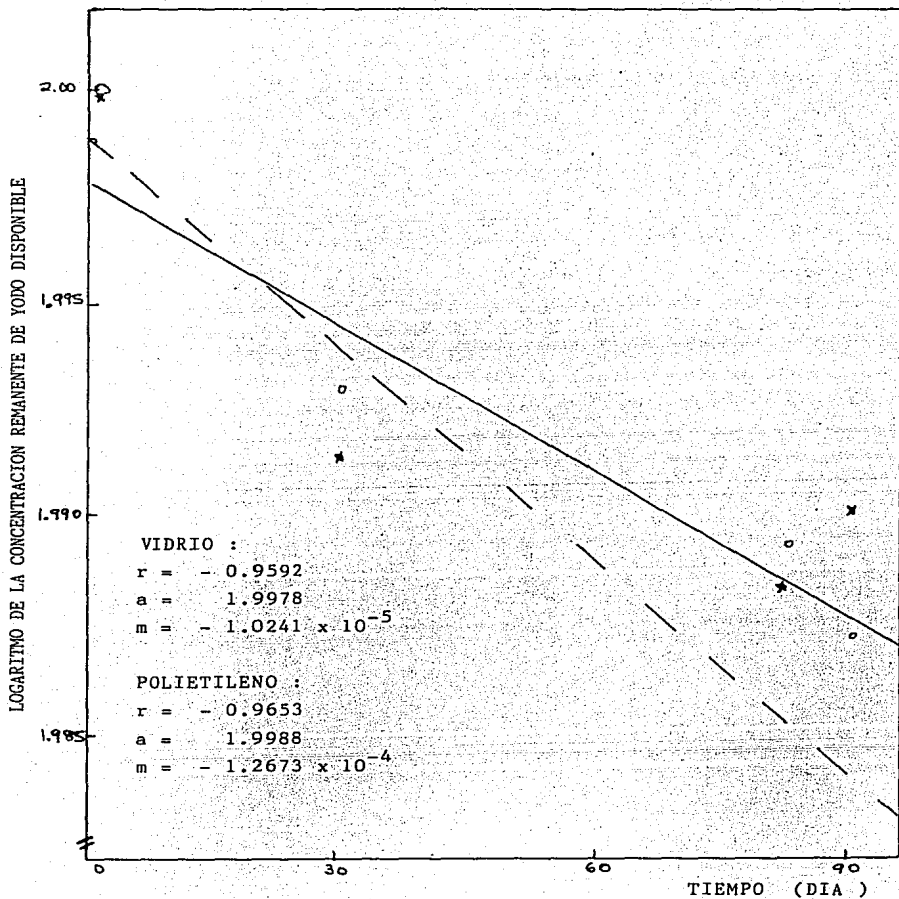
SOLUCION DE YODO-POVIDONA AL 8%
 609200
 POLIETILENO DE ALTA DENSIDAD NATURAL

T A B L A 7
 RESUMEN DE RESULTADOS

PARA- METRO	TEMPERATURA AMBIENTE				40° C					50° C				
	0 días	30	82	90	15	30	45	82	90	15	30	45	82	90
Apariencia	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Color	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Olor	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Evaluación del envase	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
pH	5.24	4.55	4.70	4.72	4.47	4.62	4.66	4.90	4.82	4.48	4.69	4.77	4.86	4.75
% cambio en peso	-	-	-	0.14	-	-	-	-	0.19	-	-	-	-	0.52
% yodo disponible	100.00	98.40	97.60	97.07	94.14	91.08	85.76	78.45	79.44	76.86	73.93	46.28	44.68	43.08

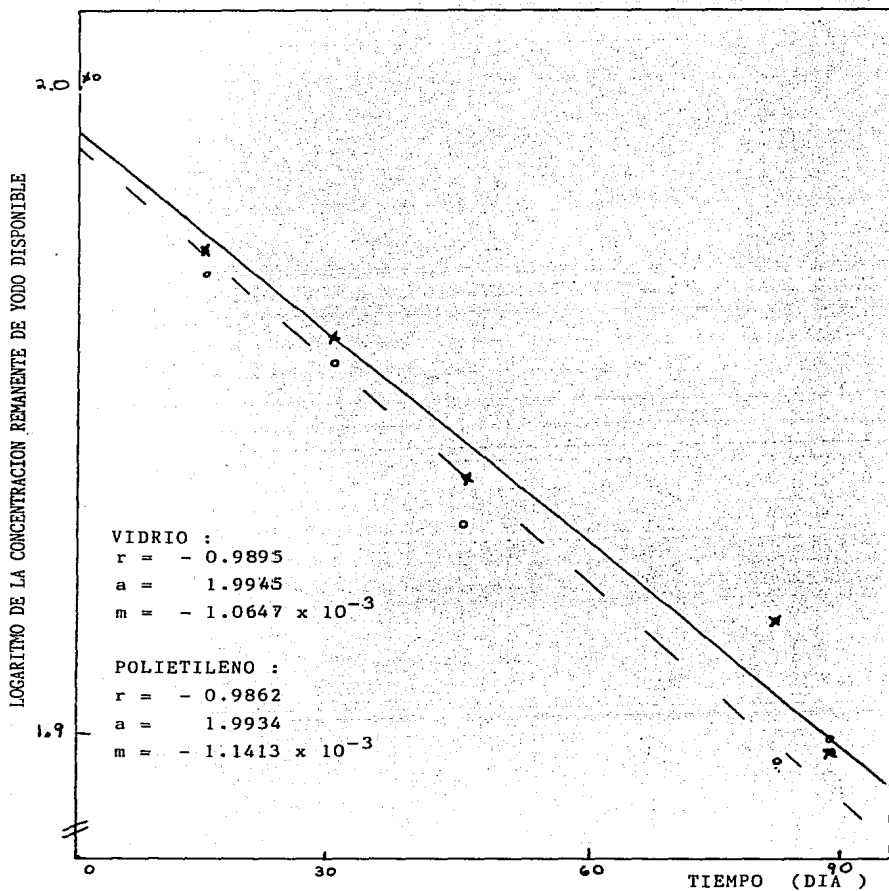
S = SATISFACTORIO; NS = NO SATISFACTORIO

Febrero 1987



GRAFICA No. 4
 LOGARITMO DE LA CONCENTRACION REMANENTE DE YODO DISPONIBLE EN DOS TIPOS DI-
 FERENTES DE ENVASE PRIMARIO EN FUNCION DEL TIEMPO, A $20^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$
 LOTE No. 609200

CLAVE : x ——— VIDRIO o - - - - - POLIETILENO

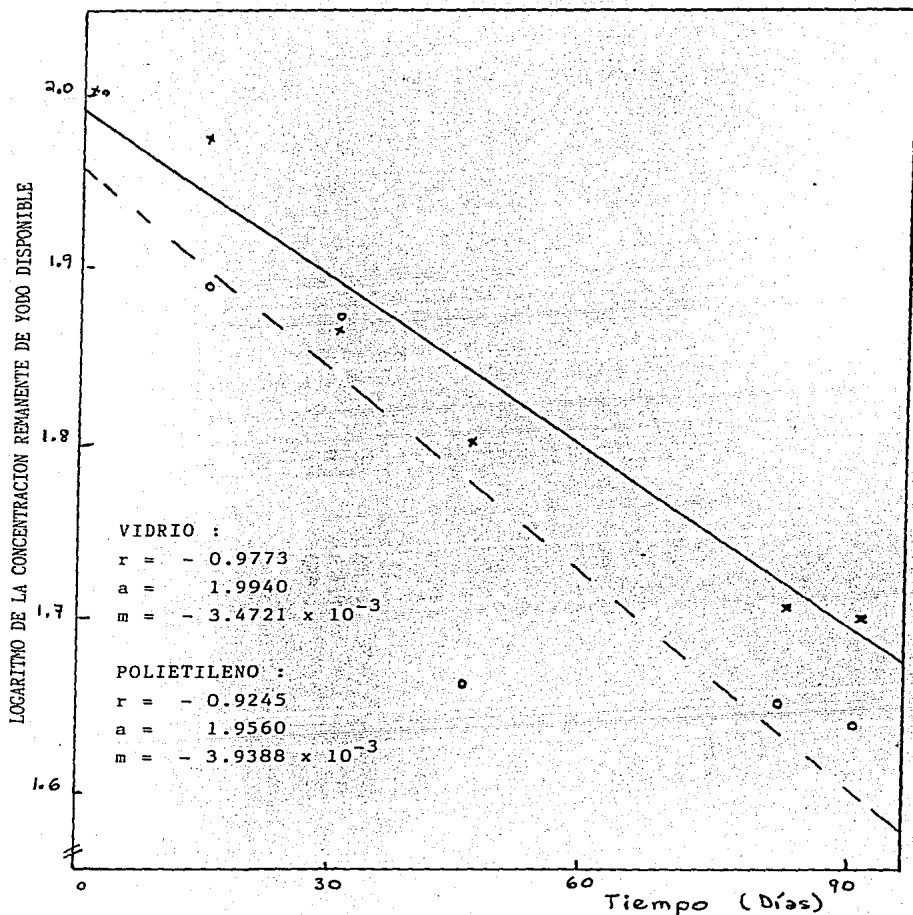


GRAFICA No. 5

LOGARITMO DE LA CONCENTRACION REMANENTE DE YODO DISPONIBLE EN DOS TIPOS
 DIFERENTES DE ENVASE PRIMARIO EN FUNCION DEL TIEMPO, A 40° C.

LOTE No. 609200

CLAVE : x ——— VIDRIO o - - - - - POLIETILENO



GRAFICA No. 6

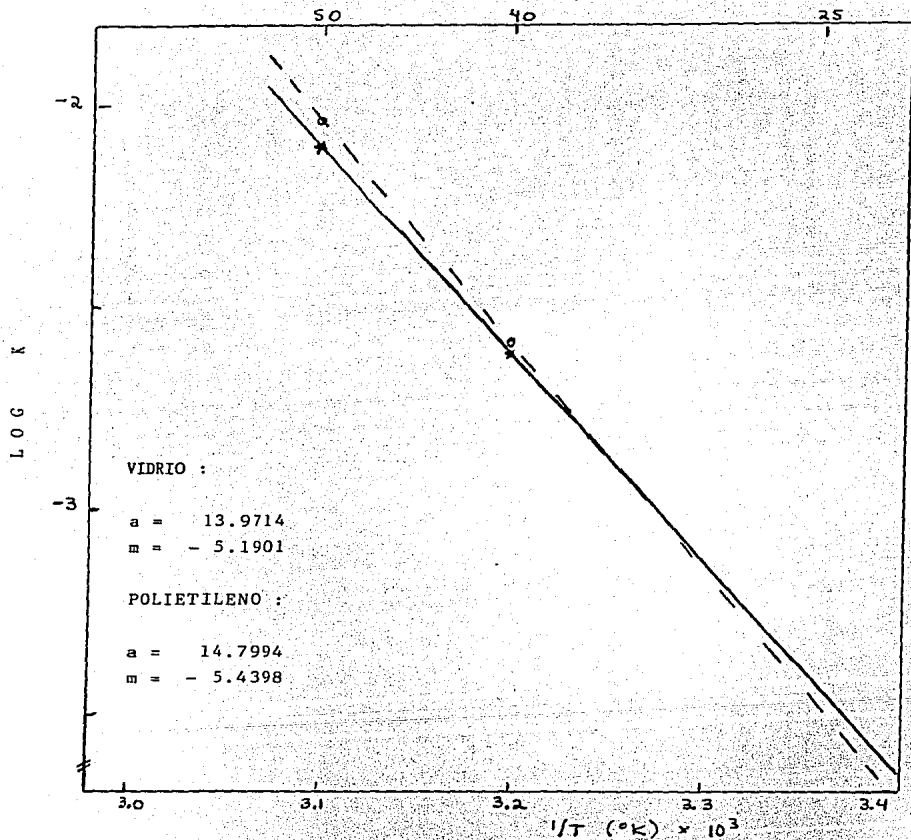
LOGARITMO DE LA CONCENTRACION REMANENTE DE YODO DISPONIBLE EN DOS TIPOS
 DIFERENTES DE ENVASE PRIMARIO, EN FUNCION DEL TIEMPO A 50° C.

LOTE No. 609200

CLAVE : x ——— VIDRIO

o - - - - - POLIETILENO

Temperatura (°C) 32.



GRAFICA No. 7

GRAFICA DE ARRHENIUS. LOTE No. 609200

CLAVE : x----- VIDRIO

o----- POLIETILENO

PRODUCTO:
 LOTE No. :
 ENVASE:

SOLUCION DE YODO-POVIDONA AL 8%
 610201
 VIDRIO AMBAR

T A B L A 8
 RESUMEN DE RESULTADOS

PARA- METRO	TEMPERATURA AMBIENTE				40° C					50° C				
	0 días	30	75	90	15	30	45	75	90	15	30	45	75	90
Apariencia	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Color	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Olor	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Evaluación del envase	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
pH	5.22	4.54	4.77	4.62	4.49	4.51	4.70	4.90	4.70	4.49	4.52	4.60	4.89	4.72
% cambio en peso	-	-	-	0.05	-	-	-	-	0.72	-	-	-	-	1.09
% yodo disponible	100.00	99.68	98.78	97.72	95.03	89.93	88.59	83.22	82.68	82.68	79.86	73.01	58.25	58.72

S = SATISFACTORIO

Febrero 1987

PRODUCTO:
 LOTE No. :
 ENVASE:

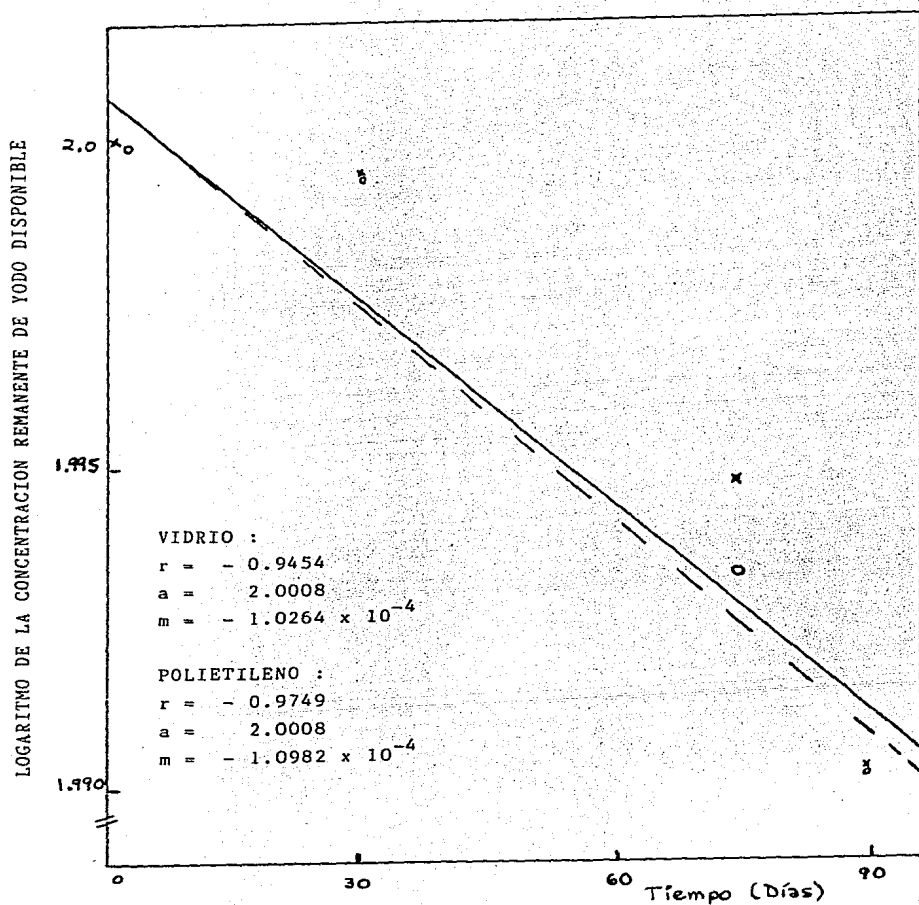
SOLUCION DE YODO-POVIDONA AL 8%
 610201
 POLIETILENO DE ALTA DENSIDAD NATURAL

T A B L A 9
 RESUMEN DE RESULTADOS

PARA- METRO	TEMPERATURA AMBIENTE				40° C					50 ° C				
	días 0	30	75	90	15	30	45	75	90	15	30	45	75	90
Apariencia	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Color	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Olor	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Evaluación del envase	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
pH	5.22	4.49	4.75	4.60	4.46	4.49	4.67	4.85	4.71	4.48	4.51	4.57	4.87	4.73
% cambio en peso	-	-	-	0.02	-	-	-	-	0.21	-	-	-	-	0.52
% yodo disponible	100.00	99.68	98.47	97.72	95.57	90.46	88.25	83.56	82.82	79.46	74.09	71.26	58.25	55.05

S = SATISFACTORIO

Febrero 1987



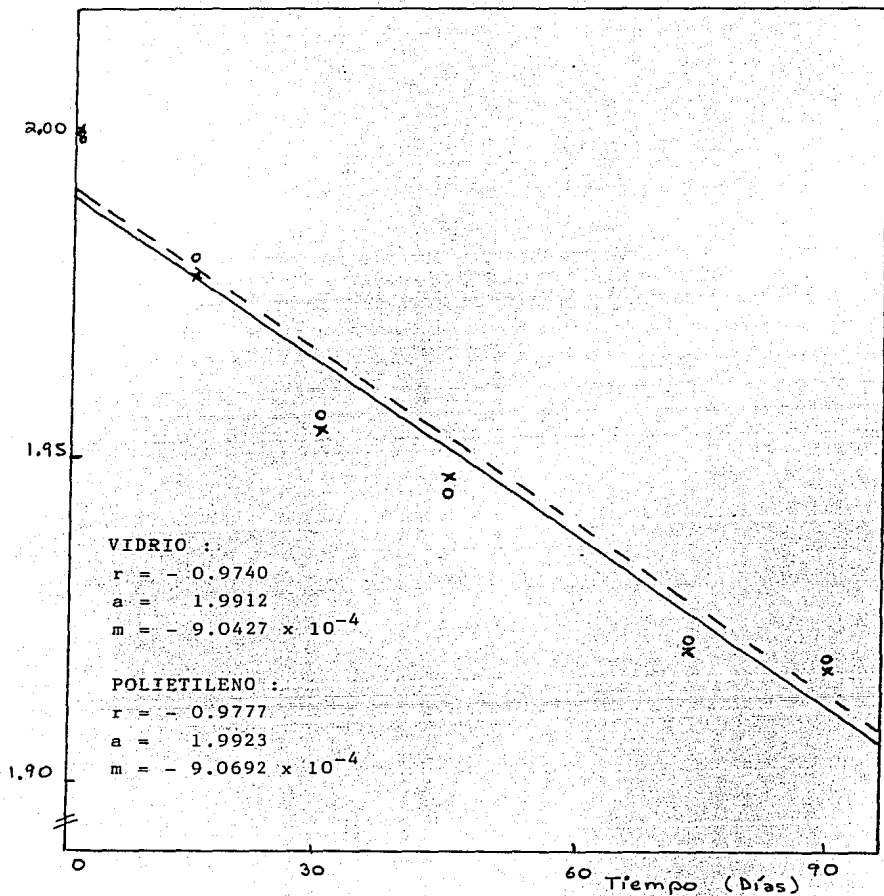
GRAFICA No. 8

LOGARITMO DE LA CONCENTRACION REMANENTE DE YODO DISPONIBLE EN DOS TIPOS
 DIFERENTES DE ENVASE PRIMARIO, EN FUNCION DEL TIEMPO, $20^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$
 LOTE No. 610201

CLAVE: x ——— VIDRIO

o - - - - - POLIETILENO

LOGARITMO DE LA CONCENTRACION REMANENTE DE YODO DISPONIBLE

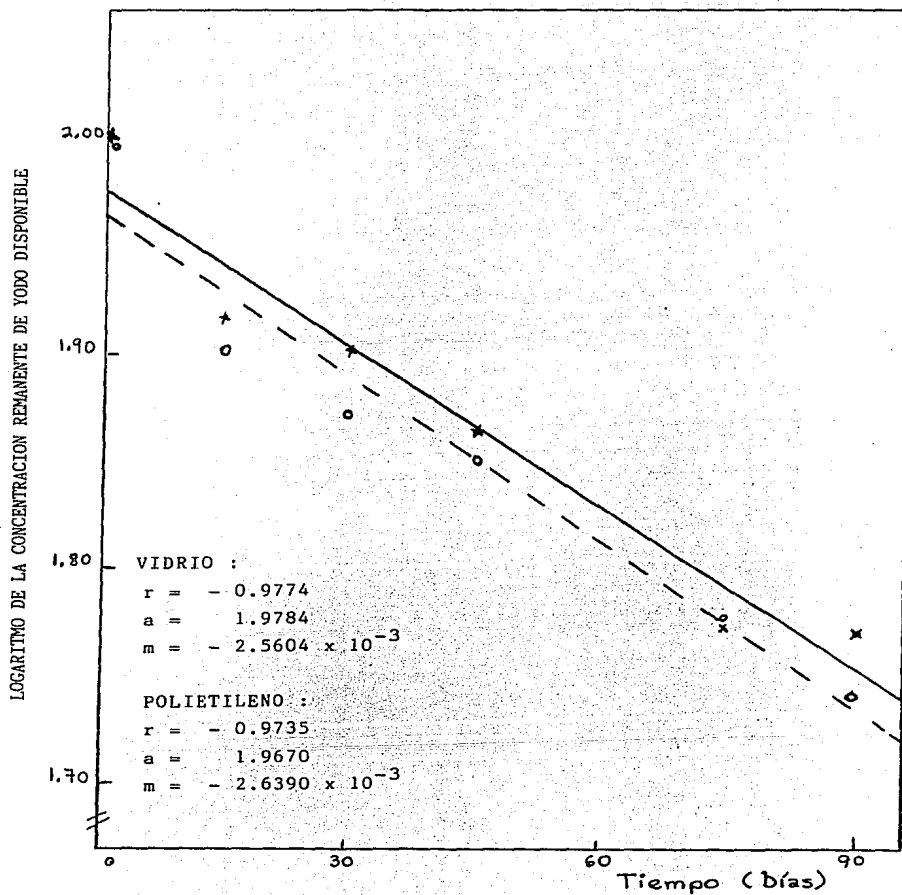


GRAFICA No. 9

LOGARITMO DE LA CONCENTRACION REMANENTE DE YODO DISPONIBLE EN DOS DIFERENTES ENVASES, EN FUNCION DEL TIEMPO A 40°C. LOTE No. 610201

CLAVE : x — VIDRIO

o - - - - POLIETILENO



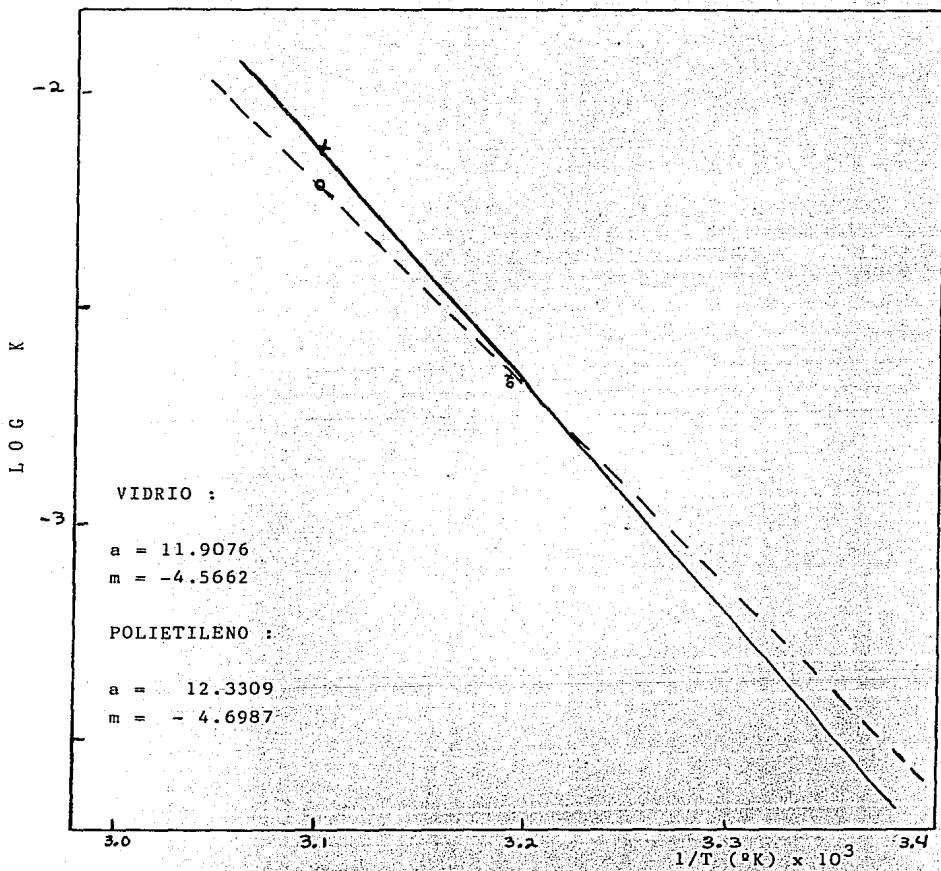
GRAFICA No. 10

LOGARITMO DE LA CONCENTRACION REMANENTE DE YODO DISPONIBLE, EN DOS TIPOS
 DIFERENTES DE ENVASE PRIMARIO, EN FUNCION DEL TIEMPO, A 50° C.

LOTE No. 610201

CLAVE: x ——— VIDRIO

o - - - - - POLIETILENO



GRAFICA No. 11.
 GRAFICA DE ARRHENIUS. LOTE No. 610201

CLAVE: x ——— VIDRIO o - - - - - POLIETILENO

PRODUCTO :
 LOTE No. :
 ENVASE:

SOLUCION DE YODO-POVIDONA AL 8%
 610202
 VIDRIO AMBAR

T A B L A 10
 RESUMEN DE RESULTADOS

PARA- METRO	TEMPERATURA AMBIENTE				40° C				50° C			
	0 días	30	60	90	15	30	60	90	15	30	60	90
Apariencia	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Color	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Olor	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Evaluación del envase	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
pH	4.80	4.57	4.60	4.71	4.50	4.52	4.57	4.73	4.47	4.53	4.51	4.79
% cambio en peso	-	-	-	0.07	-	-	-	0.52	-	-	-	1.0
% yodo disponible	100.00	99.73	99.21	98.41	94.16	86.83	83.89	79.24	76.92	76.66	53.71	50.40

S = SATISFACTORIO NS = NO SATISFACTORIO

Febrero 1987

PRODUCTO:
 LOTE NO. :
 ENVASE:

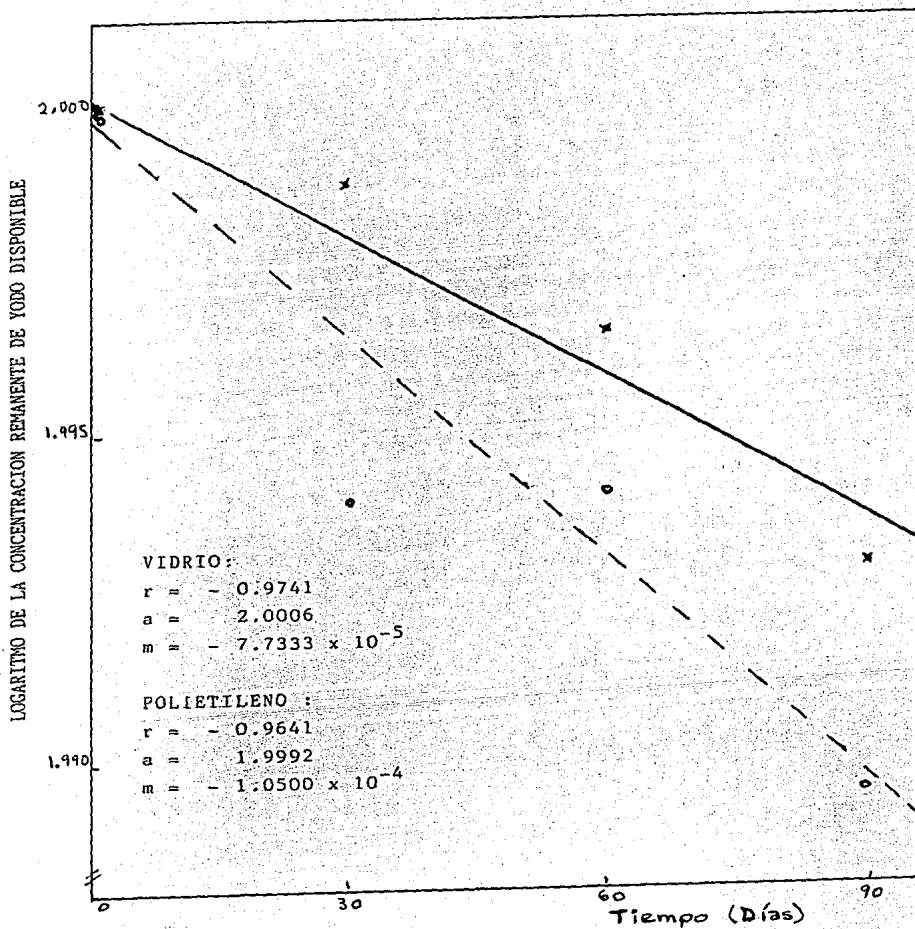
SOLUCION DE YODO-POVIDONA AL 8%
 610202
 POLIETILENO DE ALTA DENSIDAD NATURAL

T A B L A II
 RESUMEN DE RESULTADOS

PARA - METRO	TEMPERATURA AMBIENTE				40° C				50 ° C			
	0 días	30	60	90	15	30	60	90	15	30	60	90
Apariencia	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Color	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Olor	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Evaluación del envase	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
pH	4.80	4.54	4.61	4.66	4.48	4.50	4.55	4.73	4.41	4.55	4.53	4.80
% cambio en peso	-	-	-	0.03	-	-	-	0.28	-	-	-	0.96
% yodo disponible	100.00	98.67	98.67	97.61	94.16	91.24	87.53	79.24	80.14	76.18	57.03	50.77

S = SATISFACTORIO

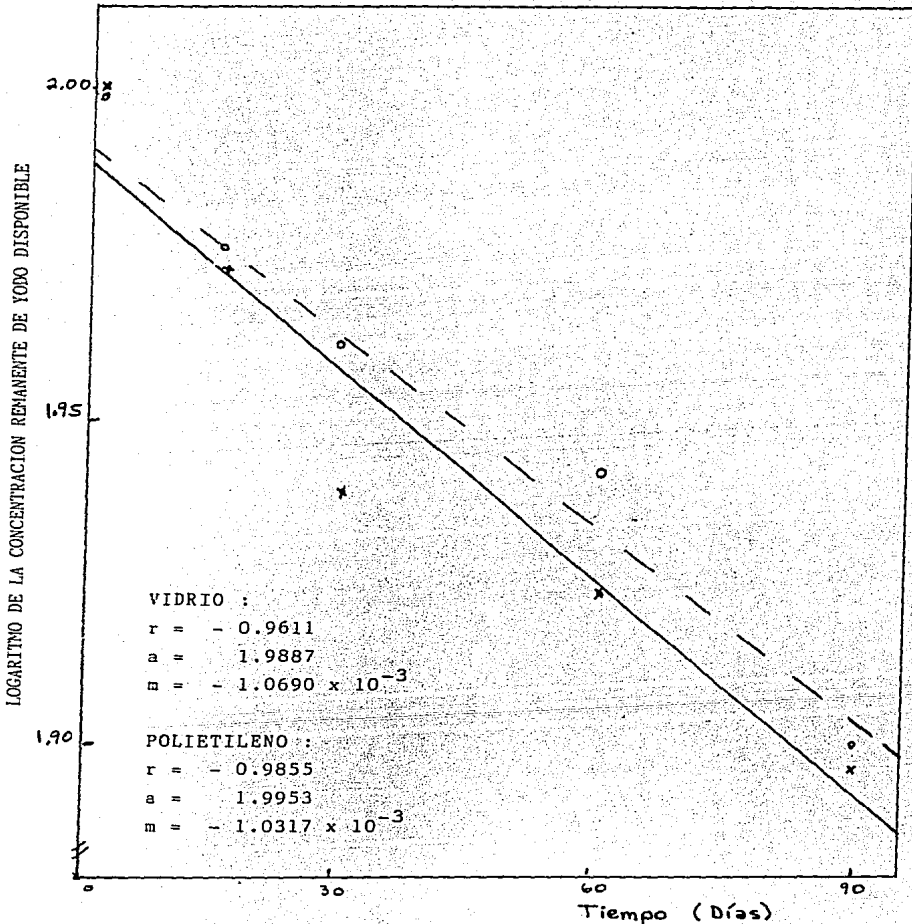
Febrero 1987



GRAFICA No. 12
 LOGARITMO DE LA CONCENTRACION REMANENTE DE YODO DISPONIBLE EN DOS TIPOS
 DIFERENTES DE ENVASE PRIMARIO, EN FUNCION DEL TIEMPO A $20^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$
 LOTE No. 610202

CLAVE : x — VIDRIO

o - - - - POLIETILENO

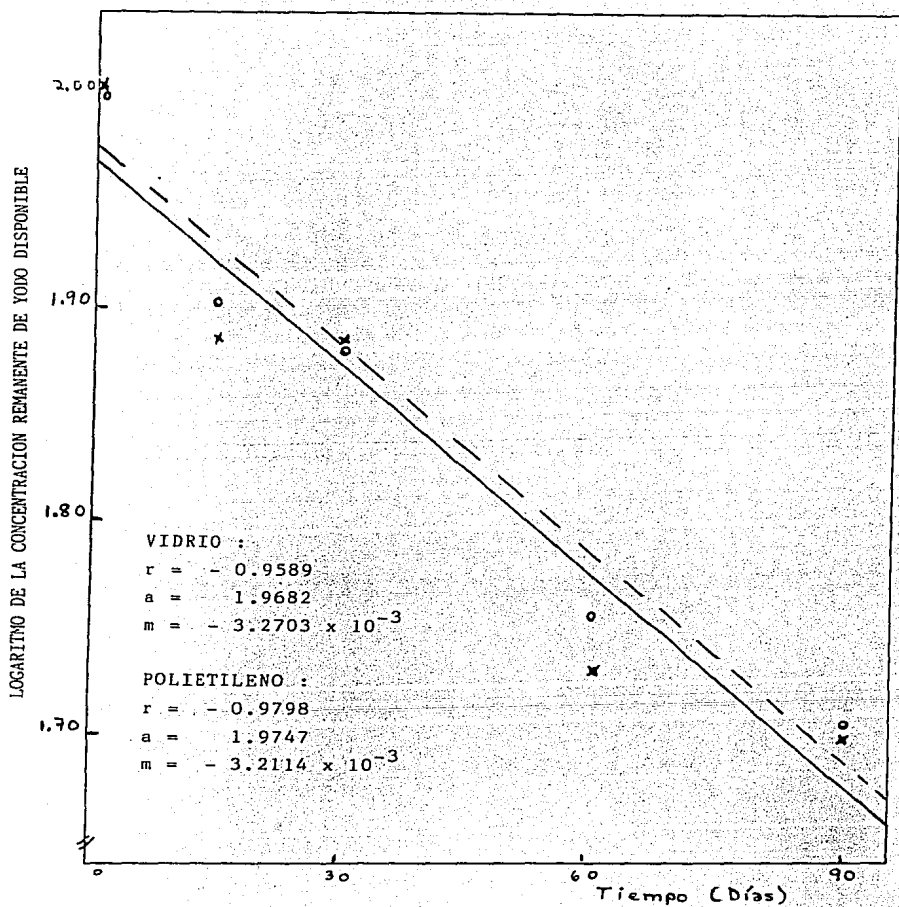


GRAFICA No. 13
 LOGARITMO DE LA CONCENTRACION REMANENTE DE YODO DISPONIBLE EN DOS TIPOS
 DIFERENTES DE ENVASE PRIMARIO, EN FUNCION DEL TIEMPO, A 40° C.

LOTE No. 610202

CLAVE: x----- VIDRIO

o----- POLIETILENO



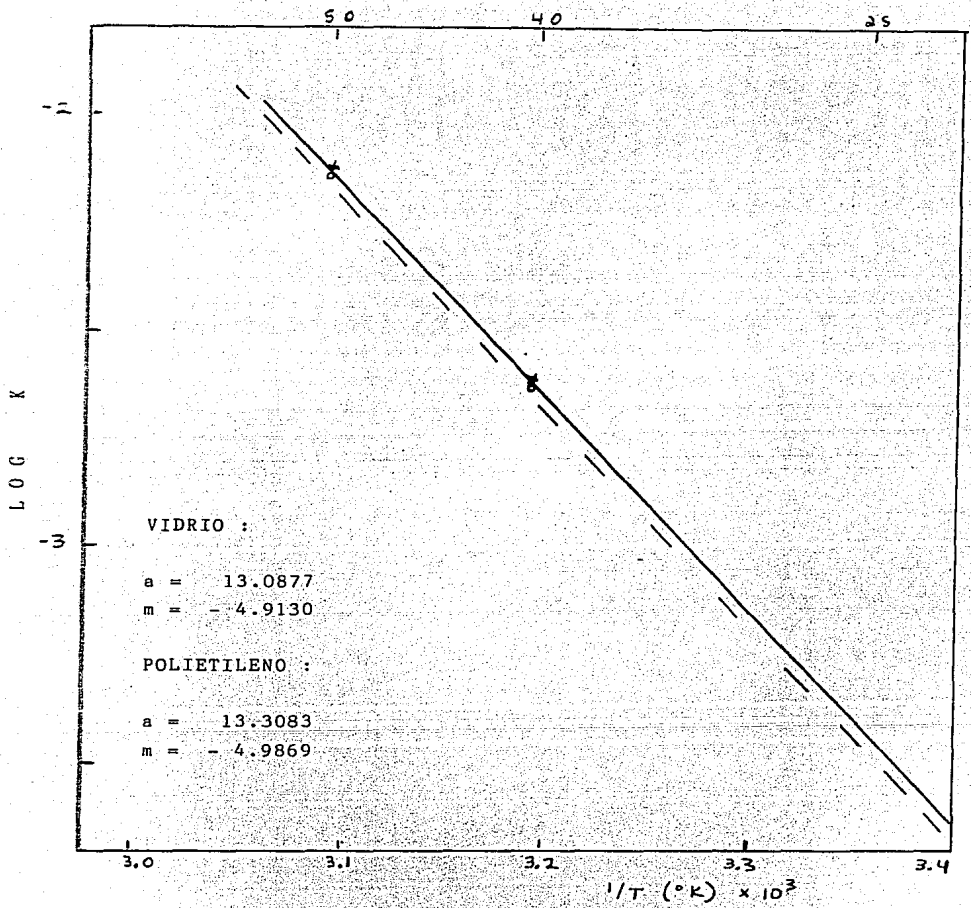
GRAFICA No. 14
 LOGARITMO DE LA CONCENTRACION REMANENTE DE YODO DISPONIBLE EN DOS TIPOS
 DIFERENTES DE ENVASE PRIMARIO EN FUNCION DEL TIEMPO, A 50° C.

LOTE No. 610202

CLAVE : x ——— VIDRIO

o - - - - - POLIETILENO

Temperatura (°C) 44.



GRAFICA No. 15

GRAFICA DE ARRHENIUS. LOTE No. 610202

CLAVE : x ——— VIDRIO o - - - - - POLIETILENO

PRODUCTO:
DURACION DEL ESTUDIO:

SOLUCION DE YODO-POVIDONA AL 8%
3 MESES

T A B L A 12
RESULTADOS DE LA GRÁFICA DE ARRHENIUS

PARAMETRO CINETICO	LOTE No. / ENVASE					
	609200		610201		610202	
	VIDRIO	P.A.D. *	VIDRIO	P.A.D. *	VIDRIO	P.A.D. *
K _{25°} d ⁻¹	3.59 x 10 ⁻⁴	3.51 x 10 ⁻⁴	3.84 x 10 ⁻⁴	3.66 x 10 ⁻⁴	3.99 x 10 ⁻⁴	3.75 x 10 ⁻⁴
Ea Kcal/mol	23.75	24.89	20.90	21.50	22.48	22.82
t ₉₀ meses	9.75	9.98	9.11	9.56	8.77	9.34
t _{1/2} años	5.36	5.49	5.00	5.26	4.82	5.14

* P.A.D. = polietileno de alta densidad

Febrero 1987

TABLA No. 13
 CONCENTRACION FINAL, EN % DE ETIQUETA, QUE SE OBTENDRIA
 DESPUES DE DOS AÑOS FORMULANDO CON 20% DE EXCESO DE
 YODO-POVIDONA

L O T E N o.	E N V A S E	
	VIDRIO	P.A.D. *
609200	92.34	92.88
610201	90.68	91.88
610202	89.68	91.26
Media	90.90	92.00
Varianza	1.8053	0.6681
F exp.	2.7021	
F teórica	0.026 < F < 39.0	

* P.A.D. = polietileno de alta densidad

TABLA No. 14
 TIEMPO AL CUAL SE OBTENDRIA EL 90% DE ETIQUETA
 FORMULANDO CON 20% DE EXCESO DE YODO-POVIDONA
 años

L O T E N o.	E N V A S E	
	VIDRIO	P.A.D. *
609200	2.23	2.28
610201	2.08	2.18
610202	2.00	2.13
Media	2.10	2.20
Varianza	0.0136	0.0058
F exp.	2.3448	
F teórica	0.026 < F < 39.0	

* P.A.D. = polietileno de alta densidad

C A P I T U L O I V
D I S C U S I O N

Es difícil hacer una distinción entre estabilidad física y química, ya que cualquier cambio físico siempre va seguido de un fenómeno químico (3). Sin embargo, siguiendo los convencionalismos, en este caso particular, se entiende por estabilidad física la apariencia, color y olor del producto.

En las tablas "Resumen de Resultados" se demuestra que estos parámetros no se alteraron por efecto del material de envase ni por efecto de la temperatura hasta 50° C en ninguno de los tres lotes ensayados.

La estabilidad química del producto se evaluó por medio de un método específico, exacto, lineal y preciso como lo demostró la validación del método. El método gráfico para la determinación del orden de reacción, gráficas 2 y 3, permitió establecer que la reacción de degradación de la solución de yodo-povidona al 8% estudiada siguió un comportamiento de primer orden, por lo que todas las demás gráficas y cálculos se realizaron bajo esta consideración.

La estabilidad de la solución de yodo-povidona al 8% fue muy similar en ambos envases. Este comportamiento se reflejó en las gráficas de concentración remanente de yodo disponible en función del tiempo. No obstante, fue necesario contar con cifras que de una manera rápida, fácil y concisa permitieran dicha com-

paración y en consecuencia, la toma de decisiones.

La ecuación de Arrhenius (22) permitió predecir, contando con la constante de velocidad, Tabla 12, la concentración final a la cual llegaría el producto después de dos años, considerando que la solución de yodo-povidona al 8% se fabrica con 20% de exceso, esto es, al 9.6%. La Tabla 13 muestra que después de dos años, el producto alcanzaría una concentración de marbete de 90.90% en envase de vidrio y de 92.00% en envase de polietileno. Aplicando la prueba de F (25) a las varianzas de los dos envases, se observa que la F calculada está comprendida entre los valores teóricos por lo que se concluye que no existe diferencia significativa de estabilidad del producto entre los dos envases.

La predicción en tiempo para alcanzar el 90% de etiqueta es prácticamente el mismo en ambos envases y sería cercano a dos años siempre y cuando exista el 20% de exceso de principio activo, pues to que en la Tabla 12 se aprecia que el tiempo para obtener el 90% de la concentración inicial fue de alrededor de 10 meses. Esto confirma la necesidad de agregar dicho exceso sin el cual, el producto tendría una vida de anaquel muy corta.

De esta forma se demostró que el envase de polietileno de alta densidad color natural no afectó la estabilidad de la solución de yodo-povidona al 8% con respecto a la que se observó en el tradicional envase de vidrio color ámbar y puesto que el comportamiento físico del envase plástico en sí, fue favorable, se puede afirmar que el cambio de contenedor es factible de realizarse.

C A P I T U L O V
R E S U M E N

La solución de yodo-povidona al 8% se comercializa actualmente en frasco de vidrio color ámbar y por cuestiones económicas se pretende cambiarlo por frasco de polietileno de alta densidad color natural. Dicho cambio no podría realizarse sin antes investigar si el nuevo envase altera la calidad del producto, por tal motivo, se aplicó un método de estabilidad acelerada que proporcionara información suficiente para que el fabricante tomara una decisión, encontrándose que no existen diferencias significativas en la estabilidad del producto entre uno y otro contenedor.

C A P I T U L O V I
C O N C L U S I O N E S

El envase propuesto como posible sustituto, esto es, el frasco de polietileno de alta densidad color natural permaneció inalterable físicamente al igual que el envase tradicional durante el estudio.

La estabilidad física de la solución de yodo-povidona al 8% fue satisfactoria durante los tres meses de estudio bajo las condiciones ensayadas.

La estabilidad química del producto fue evaluada mediante un método analítico específico, exacto, lineal y preciso y fue la misma en ambos envases estudiados.

El producto no alcanzará menos del 90% de etiqueta en un período de dos años en cualquiera de los dos envases ensayados siempre y cuando se fabrique con 20% de exceso de principio activo y se mantenga a 25° C.

C A P I T U L O VII
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Rosenstein, E. (ed.)
DICCIONARIO DE ESPECIALIDADES FARMACEUTICAS
32a. Edición.
Ediciones P.L.M. S.A.
Méx. (1986)
2. Merck Index
10th Ed.
Merck & Co., Inc.
N. J. (1983)
3. Comunicación interna
Norwich Eaton Pharmaceuticals Inc.
N. Y. (1985)
4. Cooper, M.
QUALITY CONTROL IN PHARMACEUTICAL INDUSTRY
Academic Press Inc.
N. Y. (1973)
5. Lawrence, C. A.
DESINFECTION, STERILIZATION AND PRESERVATION
Lea & Fabiger
N. Y. (1968)
6. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA XIX
United States Pharmacopoeial Convention Inc.
Rockville (1975)
7. Goodman, L., Gilman, A.
LAS BASES FARMACOLOGICAS DE LA TERAPEUTICA
Nueva Editorial Panamericana S.A.
Méx. (1982)
8. Horn, D.; Ditter, W.
Physical-chemical fundamentals of the microbicidal action of
povidone-iodine
Proceedings of the International Symposium on Povidone
University of Kentucky (1983)

9. Vratsanos, S. M.
On the structure and function of the polyvinylpyrrolidone-iodine complex
Proceedings of the International Symposium on Povidone
University of Kentucky (1983)
10. Scheck, H. V., Dimak, P., Haedicke, E., "Structure of polyvinylpyrrolidone-iodine". J. Pharmac. Sci. 68/1505 (1979)
11. Peterson, A. F.
Microbiology Efficacy of polyvinylpyrrolidone-iodine. A critical review.
Literatura técnica del proveedor
Alemania (1976)
12. Berkelman, R., Holland, B., Anderson, R. "Increased bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions". J. Clin. Microb. 15/4/635-639 (1982)
13. Favero, M. S., Bond, W. W., Petersen, N. J.
Observations on the sporocidal, bactericidal and virucidal activity of iodophors
Proceedings of the International Symposium on Povidone
University of Kentucky (1983)
14. Anderson, R. L., Berkelman, R., Holland, B.
Microbiologic investigations with iodophor solutions
Proceedings of the International Symposium on Povidone
University of Kentucky (1983)
15. LaRocca, R., Ansell, J.
Microbiology of povidone-iodine. An Overview.
Proceedings of the International Symposium on Povidone
University of Kentucky (1983)
16. Carroll, B. "The relative germicidal activity of triiodide diatomic iodine". J. Bacteriol. 69/413-417 (1955)
17. Alexander, N. M., Nishimoto, M. "Protein-linked iodotyrosines in serum after topical application of povidone-iodine (Betadine)" J. Clin. Endocrin. Metab. 53/1/105-108 (1981)
18. Rutherford, J. M.
Macromolecular aspects of the biocidal activity of povidone-iodine
Proceedings of the International Symposium on Povidone
University of Kentucky (1983)

19. Lautier, F.
Iodinated antiseptics. Dermal Toxicity and consequences of chronic cutaneous applications on the thyroid function in guinea-pigs.
Proceedings of the International Symposium on Povidone University of Kentucky (1983)
20. Knolle, P., Glöbel, B.
Release of iodide from povidone-iodine in PVP-I preparations: a review of iodide tolerances and a comparative clinical pharmacological study
Proceedings of the International Symposium on Povidone University of Kentucky (1983)
21. Investigación privada
Norwich Eaton S. A. de C. V.
Méx. (1986)
22. Connors, K.
CHEMICAL STABILITY OF PHARMACEUTICALS
John Wiley & Sons Inc.
N. Y. (1979)
23. Osol, A. (ed.)
REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES
16th Ed.
Mack Publishing Co.
Easton (1980)
24. Winicov, M.
Determination of free iodine and its significance in povidone iodine solution
Proceedings of the International Symposium on Povidone University of Kentucky (1983)
25. Ostle, B.
ESTADISTICA APLICADA
Ed. Limusa S. A.
Méx. (1983)