

UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO
“FRANKLIN ROOSEVELT”

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA**



TESIS

**PERFIL DE SEGURIDAD DE LAS FORMULACIONES MAGISTRALES
ELABORADAS EN EL ÁREA DE PREPARADOS GALÉNICOS DEL CENTRO
MÉDICO NAVAL “CMST” MAYO – JULIO 2020.**

**TESIS PARA OPTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

AUTORES:

Bachiller: Norka Beatriz Condori Ríos
Bachiller: Cesar David Chamba Saguma

ASESORA:

Mg. Vilma Amparo Junchaya Yllescas

LINEA DE INVESTIGACIÓN

Bioquímica y Farmacología
HUANCAYO – PERÚ

2021

DEDICATORIA

Dedicado a todos nuestros seres queridos que nos ayudaron a forjar las personas que somos ahora, ya que todo esto no hubiera sido posible sin su motivación contrastante, lo que nos permitió desafiarnos cada vez más para poder concluir con este anhelo.

En especial a nuestros padres que inculcaron en nosotros las bases de la responsabilidad y sobre todo el deseo de superación, convirtiéndose en un pilar para nosotros gracias a su lucha constante por no dejarnos rendir pese a las adversidades por lo que los admiramos cada día más.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos primeramente a dios, por siempre guiarnos y permitirnos cumplir nuestra meta trazada, a nuestros padres por acompañarnos siempre en todo lo que nos proponemos y a nuestros docentes y asesores que nos sirvieron de guía ya que se esforzaron en todo momento por apoyarnos bríndanos sus conocimientos para que podamos llegar a este punto tan importante para nosotros. Sabemos que el camino no ha sido fácil, pero gracias al apoyo brindado esto ha sido posible y seguiremos para adelante, ya que este solo es el principio de un largo camino por recorrer.

JURADOS

MIEMBRO PRESIDENTE

MIEMBRO SECRETARIO

MIEMBRO VOCAL

MIEMBRO SUPLENTE


DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo: Norka Beatriz Condori Rios identificada con D.N.I. 71655275 de la Escuela Profesional de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, autora de la Tesis titulada: Perfil de Seguridad de las Formulaciones Magistrales Elaboradas en el área de Preparados Galénicos del centro Médico Naval “CMST” mayo – julio 2020

DECLARO QUÉ

El tema de tesis es auténtico, siendo resultado de mi esfuerzo personal, que no ha sido copiado, que no se ha utilizado ideas, formulaciones, citas integrales e ilustraciones diversas, sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc. (En versión digital o impresa), sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor. En este sentido, soy consciente de que el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, son objeto de sanciones universitarias y/o legales.

Huancayo 25 de Marzo del 2021



.....

Norka Beatriz Condori Rios

D.N.I. 71655275

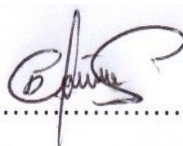
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo: Cesar David Camba Saguma identificada con D.N.I. 46833496 de la Escuela Profesional de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, autor de la Tesis titulada: Perfil de Seguridad de las Formulaciones Magistrales Elaboradas en el área de Preparados Galénicos del Centro Médico Naval “CMST” mayo – julio 2020

DECLARO QUÉ

El tema de tesis es auténtico, siendo resultado de mi esfuerzo personal, que no ha sido copiado, que no se ha utilizado ideas, formulaciones, citas integrales e ilustraciones diversas, sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc. (En versión digital o impresa), sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor. En este sentido, soy consciente de que el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, son objeto de sanciones universitarias y/o legales.

Huancayo 25 de Marzo del 2021



.....
Cesar David Chamba Saguma

D.N.I. 46833496

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN	12
II. METODOLOGÍA	20
2.1 Tipo y diseño de investigación	20
2.2 Operacionalización de variables	20
2.3 Población, muestra y muestreo	20
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	22
2.5 Procedimiento	23
2.6 Método de análisis de datos	23
2.7 Aspectos éticos	30
III. RESULTADOS	31
IV. DISCUSIÓN	36
V. CONCLUSIONES	38
VI. RECOMENDACIONES	39
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXOS	

RESUMEN

La piel es un órgano que nos comunica con el entorno, actúa como una barrera protectora que nos aísla y nos protege del medio que nos rodea; sin embargo, existen muchas sustancias de dudosa procedencia que se expenden en los diferentes comercios, pueden causar daño y alteraciones como irritación dérmica, enrojecimiento e inflamación.

OBJETIVO GENERAL: Evaluar el perfil de seguridad de las formulaciones magistrales elaboradas en el área de preparados galénicos del Centro Médico Naval “CMST” mayo – julio 2020.

METODOLOGÍA:

Corresponde a un estudio Transversal, cualitativo de nivel experimental y diseño observacional, realizado en el laboratorio de farmacia de Consultorios Externos del Centro Médico Naval “CMST”, empleando como muestra para la actividad irritante por el método de HET-CAM 15 huevos fértiles de gallinas White Leghorn 50-65g de color y aspecto uniforme y 3 formulaciones magistrales de uso dérmico (cremas) elaboradas en el Área de preparados galénicos del Centro Médico Naval “CMST”, siendo la técnica la observación y el instrumento la ficha de recolección de datos con el método de HET-CAM.

RESULTADOS: El análisis de la Irritación de las Cremas dérmicas antimicóticas por el método HET-CAM, al encontrar un p menor a 0.05 ($p=0.000$), se rechaza la hipótesis nula, es decir, el análisis de la irritación posee un nivel bajo de las Cremas dérmicas antimicóticas por el método HET-CAM, los cuales pueden ser usados sin peligro alguno para la piel.

CONCLUSIONES: El grado de toxicidad de los preparados magistrales sometidos a la determinación del método HET-CAM, si poseen o no propiedades irritantes fue que a una concentración de: 0.5% y 1%, presenta un nivel de toxicidad no irritante.

Palabras Claves: Dermatitis, Fórmula Magistral, HET CAM, Índice de Irritabilidad.

ABSTRACT

The skin is an organ that communicates us with the environment, it acts as a protective barrier that isolates and protects us from the environment around us; however, there are many substances of dubious origin that are sold in different stores, which can cause damage and alterations such as dermal irritation, redness and inflammation.

GENERAL OBJECTIVE: To evaluate the safety profile of the magistral formulations elaborated in the area of galenic preparations of the Naval Medical Center "CMST" May - July 2020.

METHODOLOGY:

It corresponds to a Transversal, qualitative study of experimental level and observational design, carried out in the Outpatient Pharmacy Laboratory of the Naval Medical Center "CMST", using as sample for the irritant activity by the HET-CAM method 15 fertile eggs of White Leghorn hens 50-65g of uniform color and appearance and 3 magistral formulations for dermal use (creams) elaborated in the Area of galenic preparations of the Naval Medical Center "CMST", being the technique the observation and the instrument the data collection form with the HET-CAM method.

RESULTS: The analysis of the Irritation of the antifungal dermal creams by the HET-CAM method, finding a p less than 0.05 ($p=0.000$), the null hypothesis is rejected, that is, the analysis of the irritation has a low level of the antifungal dermal creams by the HET-CAM method, which can be used without any danger to the skin.

CONCLUSIONS: The degree of toxicity of the magistral preparations submitted to the determination of the HET-CAM method, whether or not they possess irritant properties was that at a concentration of: 0.5% and 1%, it presents a non-irritant level of toxicity.

Key words: Dermatitis, Magistral Formula, HET CAM, Irritability Index.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente las dermatosis a nivel mundial de acuerdo a la Organización Mundial de Salud (OMS), se estima en 2% por ciento de la población, y de estos el 24% es de consultas pediátricas, de tal forma que las enfermedades dermatológicas varían ampliamente con la situación geográfica y probablemente son influenciadas por factores étnicos y ambientales; además, son causa importante de morbilidad, pérdida económica y exclusión social; tanto es así, que los países en desarrollo, las enfermedades dermatológicas constituyen un importante problema de Salud Pública que causa morbilidad según el Ministerio de Salud del Perú alcanzándose un 2% a nivel nacional ¹.

Tradicionalmente se utilizan para el tratamiento de la dermatitis productos terminados, sin embargo, las fórmulas magistrales son medicamentos alternativos, por lo que se hace necesario el perfil de seguridad en estos productos, los cuales son elaborados según las normas técnicas y científicas del arte farmacéutico para ser destinados a un paciente individualizado con el fin de complementar expresamente una prescripción facultativa detallada de sustancias medicinales; por ello el uso de fórmulas magistrales logra cubrir vacíos terapéuticos, asimismo facilita la individualización de los tratamientos y permite la administración de preparados poco estables, gracias a la preparación extemporánea ².

En la ciudad de Lima existen muchas oficinas farmacéuticas que elaboran productos magistrales en forma de gel o crema para el cuidado de la piel, que no tienen estudios de perfil de seguridad que deben cumplir, debido a que para su formulación se emplean compuestos químicos y activos biológicos para proporcionar a su producto una propiedad farmacológica; sin embargo, a estos productos terminados no se les realiza el Índice de Irritabilidad³; como se sabe la piel es el órgano más grande del cuerpo, mantiene los fluidos corporales dentro del cuerpo, previniendo la deshidratación, lo protege contra las bacterias y virus que pueden causar infecciones, ayuda a percibir el mundo externo, si hace frío o calor, si está húmedo o seco, regula la temperatura del cuerpo y elabora vitamina D cuando recibe sol; sin embargo cualquier cosa que irrite, obstruya o inflame la piel puede causar síntomas como enrojecimiento, hinchazón, ardor y picazón; es así que el índice de irritabilidad puede ser determinado por el test Draize, el cual mide la irritabilidad usando los ojos y la piel de los animales ³; por ello las nuevas alternativas de evaluación emplean procedimientos más amigables y menos dañino para los animales, este es el caso del método HET-CAM ⁴.

A fin de determinar si los preparados magistrales poseen propiedades irritantes prepararemos formulaciones según lo descrito en formularios oficiales y fue sometido a la determinación del método HET-CAM para así poder afirmar si poseen o no propiedades irritantes. A la búsqueda de romper paradigmas en la investigación, el método HET-CAM (Hen's egg test chorioallantoic membrane) es una alternativa para la evaluación de la irritación ocular producida por enfermedades dérmicas y cosméticos; por su rapidez, simplicidad, sensibilidad, fácil ejecución y su relativo bajo costo ⁵.

En lo que respecta a los antecedentes internacionales, que respaldan el propósito de la investigación, tenemos a González Y. et al. (2011)⁶, quienes realizaron una investigación con la finalidad de evaluar el índice de irritabilidad del producto oftálmico a base de *Spirulina platensis* (microalga Verde-Azul). La metodología usada para la determinación del índice de irritabilidad (II) fue el HET-CAM. Se usaron 40 huevos fértiles con un periodo de incubación de 10 días, a la que se le

administraron las sustancias de estudio. La membrana corioalantoidea es una estructura que se asemeja al ojo humano, donde los resultados demostraron que el producto evaluado no presenta hemorragia, lisis ni coagulación por lo tanto puede afirmarse que el producto es inocuo y se puede utilizar oftálmicamente.

Según Rodríguez A. et al. (2011)⁷, mediante la investigación para determinar la “actividad anti-irritante del extracto etanólico de la raíz de *Cnidocolus urens L.*”, se realizó la prueba de cromatografía donde se encontraron compuestos como flavonoides y taninos, además fue desarrollado el método de actividad irritante por el método de HET-CAM y se determinó la actividad anticoagulante. Se concluye que a una concentración de 10mg/ml el extracto etanólico de raíz posee actividad anti irritante, anti-hemorrágica y anticoagulante pero no posee actividad anti-vasodilatadora.

Asimismo, Batista A. (2013)⁸, a través de la investigación para evaluar la inmunotoxicológica de adyuvantes vacunales usando HET-CAM, realizado en 3 parámetros: el método de irritabilidad, la evaluación de autoinmunidad y la prueba de antígenos. Además, se evaluó el parámetro de eficacia y toxicidad, alcanzándose como resultado HET- CAM realizados para medir el efecto irritante, un bajo nivel de irritación, para los antígenos vacunales y proteínas humanas es de gran valor, pero su alcance para predecir autoinmunidad a nivel preclínico es limitado.

De la revisión de los antecedentes nacionales, se encontró a Mendoza M. et al. (2013)⁹, quienes evaluaron la actividad irritante de los componentes químicos de “*Uromoides dermestoides*” (Tenebrionidae), los cuales recolectaron plantas completas con las cuales se prepararon extractos metanólicos y hexanólicos, donde para evaluar la actividad irritante, se usó la técnica del HET- CAM y como control de la actividad irritante se usó Nimesulida; hallándose como resultado la presencia de ácido esteárico, linolenico, linoleico, oleico, limoneno y limoniol; además fue demostrado que el extracto metanólico presentó un IR = $3,09 \pm 0,11$; concluyéndose que el extracto metanólicos de *U. dermestoides*, no es irritante y se debe a la presencia de ácido oleico y el limoneno.

Por su parte Taype E. (2015)¹⁰, realizó una investigación usando el método de HET-CAM cuantitativo y cualitativo, siendo el objetivo evaluar la actividad irritante de 5 frutos del Perú “*Physalis peruviana* L. (aguaymanto), *Myrciaria dubia* L. (camu camu), *Mauritia flexuosa* L. (aguaje), *Solanum sessiliflorum* D. (cocona) y *Passiflora mollissima* HBK (tumbo serrano) ya que la industria de productos dérmicos utiliza estas frutas alterándolas con otros activos, fue empleada la técnica con parámetros de robustez, linealidad, exactitud y precisión; concluyéndose que mediante la técnica de HET-CAM cualitativo y cuantitativo, los resultados fueron lineal, exacto y preciso, pero no robusto.

En cuanto a Murillo J. (2011)¹¹, comparó la técnica de HET-CAM con el ensayo en animales, con la finalidad de evaluar la actividad irritante ocular y demostrar que ambas técnicas ofrecen los mismos resultados, siendo el procedimiento realizado en cuba y empleó: membrana corioalantoidea formado en los huevos fértiles de 10 días de incubación y los eritrocitos de ganado bovino, fue evaluado las sustancias como cloruro de benzalconio, lauril sulfato de sodio hidróxido de sodio, polietilenglicol; hallándose como resultado que en las dos pruebas sólo el propilenglicol resultó ser no irritante; concluyendo que estas pruebas son fáciles de realizar confiables, rápidas y económicas y sustituyen a las pruebas tradicionales realizadas en conejos ¹³.

Para Fernández M. et al. (2014)¹², se determinó la toxicidad del Voriconazol y Fluconazol, empleándose la técnica de HET-CAM Hens Egg Test- Chorioallantoic Membrane y de metodología que consistió en evaluar las características de una formulación farmacéutica de Fluconazol 2 mg/mL y Voriconazol 10mg/mL, elaborada por los químicos farmacéuticos en el servicio de farmacia Hospital Clínico Universitario de Santiago; hallándose como resultados que el Voriconazol y Fluconazol no demostraron IS Irritation Score.

En esa misma línea se cuenta con Churampi L. et al. (2015)¹, evaluó el activo biológico obtenido del extracto de frutos de *Passiflora mollissima* (Kunth) (tumbo serrano); siendo el objetivo determinar la actividad antiinflamatoria utilizando el modelo experimental: edema auricular inducido por TPA y su uso como activo

biológico en la industria de productos dérmicos, a través de pruebas de seguridad in vitro por el método Irritection Assay System. Los metabolitos secundarios encontrados fueron fenoles y flavonoides; responsables de la capacidad antioxidante. Se concluye que; el extracto etanólico de *Passiflora mollissima* (Kunth) (tumbo serrano) en condiciones experimentales, presenta un ligero potencial irritante.

También, con Inocente M. et al. (2013)¹³, realizaron una evaluación en la Facultad de Medicina de la Universidad San Martín de Porras, para determinar el efecto irritante in vitro de formulaciones cosméticas con extracto de *Myrciaria dubia* (camu camu), mediante el método HET-CAM, al evaluar las formulaciones cosméticas en la membrana corioalantoidea de huevos de gallina, demostraron una carencia de hemorragia, lisis y coagulación y los productos son considerados como no irritantes y seguros ¹⁶.

Otro aporte importante fue de Pineda N. et al. (2019)¹⁴, evaluó el efecto irritante de *Hylocereus megalanthus* (cactaceae) (pitahaya) in vitro, fue elaborado un gel elaborado con extracto acuoso del mesocarpio de la fruta y se analizó la seguridad de la fórmula por el método HET-CAM. Para la elaboración del extracto acuoso, se utilizaron 300 g de mesocarpio de *Hylocereus megalanthus* (pitahaya) por litro de agua, empleándose las concentraciones de gel preparado con el extracto acuoso fueron del 0.5 % y 1 % y se emplearon NaOH 0.1N y LSS como control positivo. El estudio fitoquímico determinó la presencia de alcaloides, saponinas, flavonoides, quinonas, etc. Las formulaciones farmacéuticas elaboradas con el gel no provocaron efecto irritante.

Para poder desarrollar esta investigación fueron revisadas algunas bases teóricas en relación a las variables de estudio, siendo una variable el Perfil de seguridad, que se definió como la característica de un medicamento o preparado magistral, que le permite emplearse con una probabilidad muy pequeña de causar efectos tóxicos o irritantes no justificables, mediante una apropiada relación riesgo/beneficio, lo que se encuentra condicionado por el medicamento o preparado magistral en sí mismo y las condiciones de su prescripción y uso ¹⁵. Por otro lado hay numerosos laboratorios

han cambiado su forma de pensar y están utilizando métodos alternativos para evaluar la seguridad y eficacia de los activos naturales a base de técnicas de HET-CAM (Hen's egg test chorioallantoic membrane), la cual se efectúa en huevos de gallina fértiles y en la membrana corioalantoidea, este método que día a día va ganando más aceptación por el mundo científico es apreciado por su rapidez, de la misma forma, la oficina farmacéutica que realiza preparaciones magistrales podría emplear este método y ofrecer seguridad y confianza sobre los productos elaborados¹⁶, además la prueba exige aplicar concentraciones definidas y evaluar la acción de las mismas sobre la membrana formada en los huevos de gallina, de tal modo que al incubar los huevos de gallina por 10 días, se forma la membrana corioalantoidea, siendo un tejido vascular formado con venas, arterias y capilares que resulta apropiado para estudiar índice de irritabilidad evitando así el uso de animales de experimentación, principalmente conejos los cuales son los más utilizados para estas pruebas.

Las fórmulas magistrales dérmicas son preparaciones elaboradas según las normas técnicas y científicas del arte farmacéutico para ser destinados a un paciente individualizado con el fin de complementar expresamente una prescripción facultativa detallada de sustancias medicinales, mediante el uso se logra cubrir vacíos terapéuticos, que facilita la individualización de los tratamientos y permite la administración de preparados poco estables, gracias a la preparación extemporánea². Es muy habitual que el dermatólogo prescriba fórmulas magistrales, quizás sea ésta una de las áreas en las que el médico prescribe un mayor número de ocasiones una fórmula magistral, porque de esa forma puede prescribir los preparados dermatológicos totalmente ajustados a las necesidades de la piel del paciente¹⁷. Con enfoque conceptual se puede mencionar a perfil de seguridad los cuales se clasificarán según las consecuencias de una sobredosis del mismo, si son vesicantes, corrosivos, mutagénicos, carcinogénicos, infecciosos¹⁸, así también las fórmulas magistrales, considerada como aquella preparación de un medicamento individualizado destinado a un paciente, por un farmacéutico o bajo su dirección, prescrito por un facultativo, dispensado en una farmacia o servicio de farmacia y dando información al usuario¹⁸, también la irritación aguda, constituye un proceso reactivo de tipo doloroso o inflamatorio que sufre el organismo, ocasionado por la presencia de un agente físico, químico, microbiológico o estímulos (pe: el calor o la

luz ultravioleta), que se manifiesta como alergia¹⁹ y la membrana corioalantoidea, es una estructura que se forma en el huevo producto del proceso embrionario de reptiles, aves y mamíferos, situado caudalmente al saco vitelino; ante lo tratado se formula el siguiente problema de investigación ¿Cuál es el perfil de seguridad de las formulaciones magistrales elaboradas en el área de preparados galénicos del Centro Médico Naval “CMST” mayo – julio 2020? y como problemas específicos ¿Qué índice de irritabilidad presentarán las formulaciones magistrales dérmicas elaboradas en el Área de Preparados Galénicos del Centro Médico Naval “CMST”? . En consecuencia esta investigación es importante porque cada vez más las oficinas farmacéuticas están ofreciendo el servicio de preparaciones magistrales y muchas no cumplen una evaluación de índice de irritabilidad, de tal forma que los resultados obtenidos servirán de base para implementar estas evaluaciones en formulaciones magistrales y cosméticos en el Perú, empleándose una técnica técnica poco conocida, la cual consiste en usar huevos de gallina fértiles evitando así el uso y sufrimiento de animales de experimentación; además resulta relevante en la actualidad los ensayos In vitro como una alternativa por su economía y mayor rapidez en los resultados; en consecuencia este estudio favorecerá dar inicio a la realización de nuevas y futuras investigaciones y de esta forma utilizar cada vez menos animales en la experimentación y porque poseen ventajas importantes sobre las pruebas in vivo.

Para reforzar el cimiento de la investigación, fueron realizadas diversas actividades, que permitieron resolver los enunciados planteados; en ese sentido, el Objetivo general de esta investigación fue evaluar el perfil de seguridad de las formulaciones magistrales elaboradas en el área de preparados galénicos del Centro Médico Naval “CMST” mayo – julio 2020; siendo los objetivos específicos: Analizar el efecto tóxico e irritante por el método de HET-CAM en crema dérmica antimicótica al 0.5% y 1% como preparado magistral, así también Analizar el efecto tóxico e irritante por el método de HET-CAM en crema dérmica antimicótica al 1%, como producto de laboratorio.

Además se planteó las siguientes hipótesis, entre ellas la hipótesis nula H_0 : Las formulaciones magistrales dérmicas elaboradas en el Área de Preparados Galénicos del Centro Médico Naval “CMST” y evaluadas por el método de HET-CAM son seguras, de acuerdo a los resultados obtenidos y como hipótesis alterna H_1 , las formulaciones magistrales dérmicas elaboradas en el Área de Preparados Galénicos del Centro Médico Naval “CMST” evaluadas mediante el método HET-CAM, presentan bajo índice de irritabilidad, de acuerdo a los resultados obtenidos.

II. METODOLOGÍA

La metodología empleada fue el método Hen's Egg Test-Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) propuesta por *Luepke* bajo el protocolo N° 108 de las técnicas in vitro en Toxicología (INVITTOX) validadas y reglamentadas por la Unión Europea, correspondiente a un estudio experimental se busca calcular el índice de irritación (Irritation Score) analizando los potenciales procesos nocivos que pudiesen ocurrir en los vasos sanguíneos de la membrana Corioalantoidea en el embrión en desarrollo durante un lapso de tiempo de exposición de 300 segundos.

2.1. Tipo y diseño de investigación

El presente estudio fue de tipo experimental porque permitió examinar los datos a través de la observación de los diferentes sucesos o eventualidades que se anotaban conforme ocurrieron, trabajándose con huevos de gallina fértiles y formulaciones magistrales dérmicas en forma aleatoria ¹⁷.

El diseño estudiado aplicado fue básico y observacional debido a que tuvo por finalidad la obtención y recopilación de información a fin de ir construyendo una base de conocimiento que suman a la información previa existente.

2.3. Población, muestra y muestreo

Población biológica:

Para la realización de la investigación fue necesario adquirir 45 huevos de gallina fértil fecundados de la "Granja Ronald", ubicado en el distrito de Santa Clara- Ate y las formulaciones magistrales de uso dérmico fueron elaboradas en el Área de preparados galénicos del Centro Médico Naval "CMST"¹⁸.

Muestra de investigación:**Muestra biológica:**

n= 15 huevos

Criterios de inclusión:

Para la actividad irritante por el método de HET-CAM se utilizó 15 huevos fértiles de gallinas White Leghorn de tamaño mediano de 50-65g de peso aproximadamente, de color y aspecto uniforme, los cuales se deberían encontrar en perfecto estado y procedentes de gallinas saludables de granja con alimentación balanceada que tengan una incubación máxima de 10 días¹⁹.

Criterio de Exclusión:

Que correspondan a huevos no fértiles de gallinas White Leghorn , con peso menor a 50 g , que no se encuentren en perfecto estado, que sean de gallinas de granja sin alimentación balanceada y que tengan una incubación pasado los 10 días.

Muestra Farmacológica:**Población Farmacológica 1:**

- Lote de preparados magistral al 0,5 % y 1% de clotrimazol en una cantidad de 30 frascos.

Muestreo:

Fueron seleccionados para realizar el análisis de irritabilidad, en forma aleatoria las formulaciones magistrales de uso dérmico (cremas: antipuriginosas, antifúngicas y antipsoriasisicas) elaboradas en el Área de preparados galénicos del Centro Médico Naval "CMST"²⁰.

- Crema dérmica antimicótica al 0.5% y 1% (Preparado Magistral) en cantidad de 3 unidades.

Población Farmacológica 2:

Lote de preparado de Clotrimazol industrial de laboratorio Bayer, con número de lote 85105256 en cantidad de 15 unidades.

- Crema dérmica antimicótica al 1% (Producto de Laboratorio Bayer), en cantidad de 3 unidades.

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

Técnica de investigación:

La técnica que se utilizó fue la observación, porque a través de esta técnica se analizaron los ensayos en laboratorio que nos permitió conocer las dimensiones de estudio mediante el método de HET-CAM¹⁸.

Instrumento de Investigación:

El instrumento utilizado fue la ficha de observación.

Además, se utilizaron otros instrumentos para la parte experimental como:

- Reactivos
- Estufa
- Rotavapor
- Ovoscopio
- Incubadora

Validez y confiabilidad del instrumento de investigación:

Para que el instrumento cuente con la validez y confiabilidad, fue sometido a juicio de expertos, para ello se contó con 3 jueces, que se caracterizaron por tener el grado de magister (Mg) o doctor (Dr) y quienes alcanzaron sus recomendaciones para mejorar el instrumento²⁴, obteniéndose el puntaje de muy bueno en el siguiente cuadro¹⁷:

Juicio de expertos	Puntaje
Mg. Roció López Calderón	05
Mg. Aracely Janett, Maravi Cabrera	05
Mg. Karen Ayala Guevara	05

De acuerdo a una escala de valor: 1) Muy deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) Muy buena

2.5 Procedimiento:

Recolección de huevos de gallina

Para recolectar los huevos de gallina fue necesario trasladarse al distrito de Santa Clara – Ate, en donde se encuentra la granja, a quienes les fue solicitado los huevos y se seleccionarán aquellos que tuvieron un tamaño regular y un color uniforme, además no presenten rajadura y laceración ya que podría perjudicar el proceso de incubación. Los huevos fueron protegidos individualmente con papel toalla y franela, transportados en contenedores acondicionados para evitar el daño y la ruptura ²⁰.

Incubación de los huevos:

Fue necesario una incubadora de huevos a una temperatura que no pase los $37,5 \pm 0,5$ °C y la humedad alrededor de $62,5 \pm 7,5\%$, siendo el tiempo estimado de la incubación de 9 días, donde la revisión del proceso de incubación fue determinado por un ovoscopio el cual verificó la formación de la membrana corialantoidea, cumpliéndose el siguiente proceso:

- a) Fue empleado los huevos embrionados de gallinas fértiles de la raza White Leghorn, adquiridos en la “Granja Ronald”, ubicado en el distrito de Santa Clara-Ate, el cual cumple con los Protocolos establecidos por el Ministerio de Salud, con un peso entre 50 - 65 g. como máximo.



- b) Se procedió al lavado de los huevos utilizando agua destilada, NaCl al 0,9% como control negativo y NaOH a 0,1 N al 1% como controles positivos .
- c) Se rompe la cáscara por la cámara de aire empleando tijeras y pinzas de acero inoxidable.



- d) Se observa el desarrollo embrionario empleando un ovoscopio.
- e) Se mide el tiempo de índice de irritabilidad usando un cronómetro.
- f) El crecimiento embrionario fue revisado con el ovoscopio y se determina la viabilidad del huevo, aquellos huevos que demuestren crecimiento embrionario irregular fueron desechados.



- g) Los huevos viables fueron marcados en la zona de la cámara de aire donde se procede a romperlos con ayuda de la tijera y extraer la cáscara con la pinza, para posteriormente los huevos son abiertos y son regresados a la incubadora para evitar su enfriamiento; tomándose en consideración que la temperatura no debe pasar los $37,5 \pm 0,5$ °C.

- h) Fue considerado como tiempo estimado de la incubación 9 días.
- i) Se procede en adicionar las soluciones estándar de irritación (sustancias de referencia); se observa las reacciones de hemorragia, lisis (desintegración de los vasos) y coagulación (desnaturalización de las proteínas intra y extravasculares) por un tiempo de 5 min. o 300 segundos y se registra el tiempo en que aparece cada una para calcular el índice de irritación (II) a través de la fórmula siguiente¹⁷:

$$I.I = (301 - \text{seg H} / 300) 5 + (301 - \text{seg L} / 300) 7 + (301 - \text{seg C}) / 300) 9$$

Dónde:

H = Hemorragia

L = Lisis de los vasos

C = Coagulación

Seg = El tiempo en segundos en que aparece cada reacción.

Se evalúa la severidad de las tres reacciones posibles (lisis, hemorragia y coagulación) a los 5 min de aplicadas las sustancias de ensayo, clasificándose de acuerdo con la siguiente escala:

Tabla N°1 Clasificación del índice de irritabilidad

RANGO HET CAM	CATEGORÍA IRRITANTE
0,0 – 0,9	NO IRRITANTE
1,0 – 4,9	IRRITANTE LEVE
5,0 – 8,9	IRRITANTE MODERADO
9,0 – 21,0	IRRITANTE SEVERO

Fuente: Inocente M. et al (2013)¹³

Si se observa alguna reacción de escala 3 en cuales quiera de los tres tipos de reacciones, entonces se repite el ensayo utilizando otros tres huevos embrionados, pero con un tiempo de exposición del producto de 1 min, se reevalúa la reacción obtenida, utilizando la misma escala; encontrándose que la evaluación final de la magnitud de irritabilidad se asigna atendiendo a la puntuación más alta obtenida en tres réplicas ¹³.

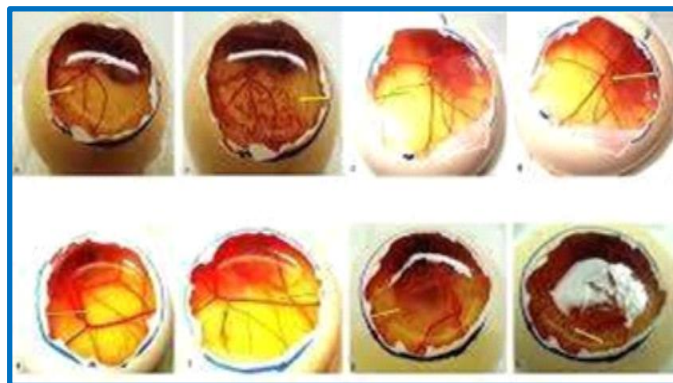


Figura 1: Etapas del resultado del HET-CAM

Fuente: Inocente M. et al (2013)¹³

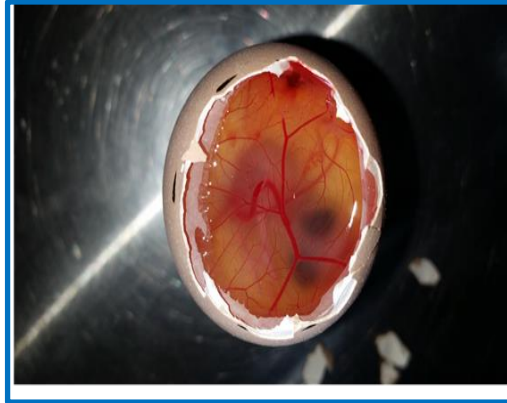
Los reactivos empleados fueron como: , NaCl al 0,9% como control negativo y NaOH a 0,1 N al 1% como controles positivos, para realizar la investigación.



CONTROLES DEL MÉTODO HET CAM

Figura 2: Etapas del resultado HET-CAM en grupo 1: Con Tres (3)

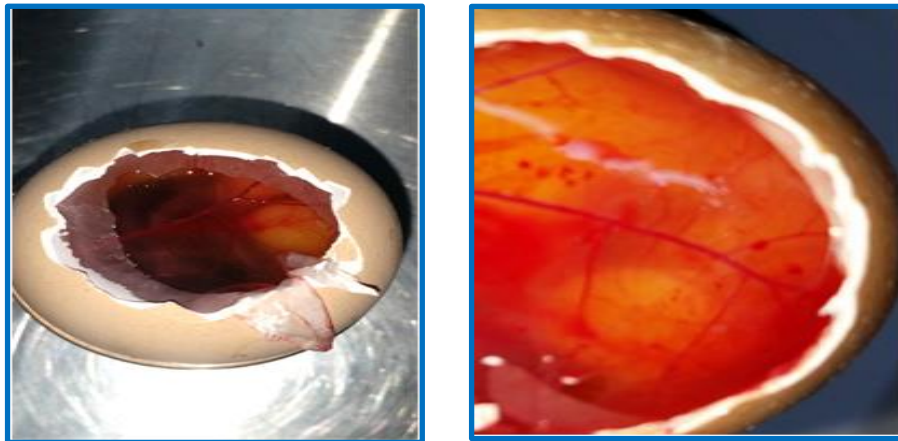
Huevos como Control NaCl 0.9%



Fuente: Elaboración propia

Control negativo NaCl 0.9% (sin reacción)

Figura 3: Etapas del resultado HET-CAM en grupo 2 , con 3 huevos como Control positivo NaOH 1 %

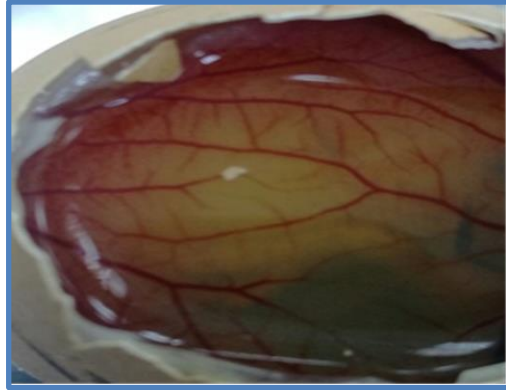


Fuente: Elaboración propia

Control positivo NaOH 1% se observa lisis hemorragia y ligera coagulación, irritante severo.

EXPERIMENTO CON EL MÉTODO HET CAM

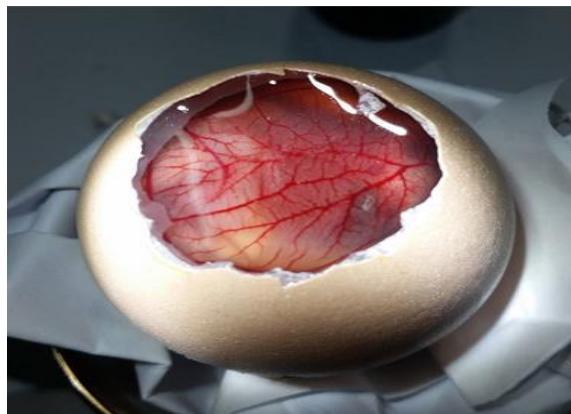
Figura 4: Prueba HET CAM con crema dérmica antimicótica magistral al 0,5 % de clotrimazol.



Fuente: Elaboración propia

Prueba HET CAM (sin reacción)

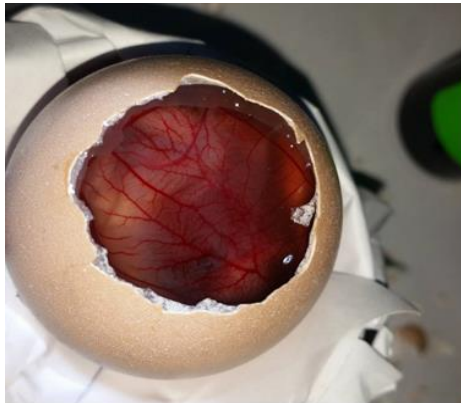
Figura 5: Prueba HET CAM con crema dérmica antimicótica magistral al 1 % de clotrimazol.



Fuente: Elaboración propia

Prueba HET CAM (sin reacción)

Figura 6: Prueba HET CAM con crema dérmica antimicótica magistral al 1 % de clotrimazol.



Fuente: Elaboración propia

Prueba HET CAM (sin reacción)

2.6. Método de análisis de datos

El Método de análisis de datos se da de la siguiente manera:

Los datos fueron recolectados en fichas de observación elaborado por los investigadores, además para interpretar los resultados del estudio de acuerdo a los objetivos e hipótesis, fue tomado el tiempo y se compara el perfil de seguridad de las fórmulas magistrales dérmicas en relación al grado de irritación de los huevos (membrana corialantoidea), empleando el método Hen's Egg Test-Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) protocolo N° 108 de las técnicas in vitro en Toxicología (INVITTOX) validadas y reglamentadas por la Unión Europea¹³.

En este estudio experimental se busca calcular el índice de irritación (Irritation Score) analizando los potenciales procesos nocivos que pudiesen ocurrir en los vasos sanguíneos de la membrana Corioalantoidea en el embrión en desarrollo durante un lapso de tiempo de exposición de 300 segundos, el análisis estadístico fue realizado utilizando el Software SPSS v20¹⁸.

2.7. Aspectos éticos

Muchos investigadores están rechazando realizar ensayos in vivo debido a la atrocidad de estos métodos en los animales y están optando por los ensayos in vitro, ya que se logra una mayor correlación de resultados con el ser humano, que con los ensayos en animales y así evitar la exposición innecesaria de productos irritantes en estos. Por tanto el presente trabajo está basado en la credibilidad de las fuentes empleados por los investigadores respetando el estilo científico, asimismo se aplicó las buenas prácticas de laboratorio en la investigación las mismas que respalda su validez y confiabilidad¹⁹.

III. RESULTADOS

Una vez finalizado los ensayos en laboratorio sobre el método Hen's Egg Test-Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) propuesta por Luepke bajo el protocolo N° 108 de las técnicas in vitro en Toxicología (INVITTOX) validadas y reglamentadas por la Unión Europea en las fórmulas magistrales del clotrimazol y otra de procedencia de la industria farmacéutica, fue analizado el perfil de seguridad de las formulaciones magistrales elaboradas en el área de preparados galénicos del Centro Médico Naval "CMST, que permitió adquirir información, la cual fue registrada en la ficha de observación, datos que fueron procesados en el programa SPSS versión 20 obteniéndose un conjunto de tablas que a continuación se detalla:

Tabla 1: Efecto tóxico e irritante por el método de HET-CAM como control negativo con NaCl 0,9 % en 3 huevos.

Control Negativo	Lisis	Hemorragia	Coagulación	I.I	Clasificación
NaCl 0.9% I	301	301	301	0	NO IRRITANTE
NaCl 0.9% II	301	301	301	0	NO IRRITANTE
NaCl 0.9% III	301	301	301	0	NO IRRITANTE
PROMEDIO				0	NO IRRITANTE

Fuente: Ensayo propio en laboratorio

En la tabla 1, en cuanto al efecto tóxico e irritante encontrado en los huevos, según el método de HET-CAM como control negativo con NaCl 0,9 % en 3 huevos, da como resultado ninguna reacción, por tanto, se considera al índice de irritabilidad negativo.

Tabla 2: Efecto tóxico e irritante por el método de HET-CAM como control positivo con NaOH 0.1 N en 3 huevos.

Control Positivo	Lisis	Hemorragia	Coagulación	I.I	Clasificación
NaOH 0.1N I	85	181	155	11.42	IRRITANTE SEVERO
NaOH 0.1N II	40	82	210	12.47	IRRITANTE SEVERO
NaOH 0.1N III	35	80	214	12.5	IRRITANTE SEVERO
PROMEDIO				12.58	IRRITANTE SEVERO

Fuente: Ensayo propio en laboratorio

En la tabla 2, en cuanto al efecto tóxico e irritante encontrado en los huevos, según el método de HET-CAM como control positivo con NaOH 0.1 N en 3 huevos, da como resultado una reacción irritante severo, con promedio de índice de irritabilidad de 12.58.

Tabla 3: Efecto tóxico e irritante por el método de HET-CAM en crema dérmica antimicótica de clotrimazol al 0.5% como preparado Magistral.

Clotrimazol 0.5%	Lisis	Hemorragia	Coagulación	I.I	Clasificación
1	301	301	301	0	NO IRRITANTE
2	301	301	301	0	NO IRRITANTE
3	301	301	301	0	NO IRRITANTE
PROMEDIO				0	NO IRRITANTE

Fuente: Ensayo propio en laboratorio

En la tabla 3, en cuanto al efecto tóxico e irritante encontrado en los huevos, según el método de HET-CAM realizado en crema dérmica antimicótica de clotrimazol al 0.5% como preparado magistral, obteniéndose un promedio de no irritante al encontrarse un índice de irritabilidad de cero.

Tabla 4: Efecto tóxico e irritante por el método de HET-CAM en crema dérmica antimicótica al 1% como preparado Magistral.

Clotrimazol 1%	Lisis	Hemorragia	Coagulación	I.I	Clasificación
1	301	301	301	0	NO IRRITANTE
2	301	301	301	0	NO IRRITANTE
3	301	301	301	0	NO IRRITANTE
PROMEDIO				0	NO IRRITANTE

Fuente: Ensayo propio en laboratorio

En la tabla 4, en cuanto al efecto tóxico e irritante encontrado en los huevos, según el método de HET-CAM realizado en crema dérmica antimicótica de clotrimazol al 1 % como preparado magistral, obteniéndose un promedio de no irritante al encontrarse un índice de irritabilidad de cero.

Tabla 4: Efecto tóxico e irritante por el método de HET-CAM en crema dérmica antimicótica al 1%, como producto de laboratorio Bayer.

Clotrimazol 1%	Lisis	Hemorragia	Coagulación	I.I	Clasificación
1	301	301	301	0	NO IRRITANTE
2	301	301	301	0	NO IRRITANTE
3	301	301	301	0	NO IRRITANTE
PROMEDIO				0	NO IRRITANTE

Fuente: Ensayo propio en laboratorio

En la tabla 4, en cuanto al efecto tóxico e irritante encontrado en los huevos, según el método de HET-CAM realizado en crema dérmica antimicótica de clotrimazol al 1 % como preparado industrial de laboratorio bayer, obteniéndose un promedio de no irritante al encontrarse un índice de irritabilidad de cero.

Contrastación de las Hipótesis

- Hipótesis nula H^0

Las formulaciones magistrales dérmicas elaboradas en el Área de Preparados Galénicos del Centro Médico Naval “CMST” y evaluadas por el método de HET-CAM son seguras, de acuerdo a los resultados obtenidos.

- Hipótesis alterna H^1

Las formulaciones magistrales dérmicas elaboradas en el Área de Preparados Galénicos del Centro Médico Naval “CMST” evaluadas mediante el método HET-CAM, presentan bajo índice de irritabilidad, de acuerdo a los resultados obtenidos.

RESPECTO A LA:

1. Prueba Estadística.

T de Student para dos muestras relacionadas - Prueba paramétrica.

2. Elección de nivel de significancia. $\alpha = 0,05$

3. Regla de decisión

Si $p < \alpha$ entonces se rechaza la hipótesis nula.

4. Cálculos estadísticos

Si $p < \alpha$ entonces se rechaza la hipótesis nula.

Análisis de la Irritación de las Cremas dérmicas antimicóticas por el método het-cam en el Área de Preparados Galénicos del Centro Médico Naval "CMST".

Nivel de toxicidad ocular aguda	P
Antes de análisis la toxicidad ocular aguda	0.000*
Después del análisis la toxicidad ocular aguda	

*T de Student para dos muestras relacionadas.

Al encontrar un p menor a 0.05 ($p=0.000$), **se acepta la hipótesis nula**, es decir, el análisis de la irritación negativo o no irritante, de las Cremas dérmicas antimicóticas por el método HET-CAM elaborados en el Área de Preparados Galénicos del Centro Médico Naval "CMST", los cuales pueden ser usados sin peligro alguno para la piel.

IV. DISCUSIÓN

Una vez presentado y analizado los resultados de esta investigación; en base a los antecedentes internacionales y nacionales revisado en este estudio, fue necesario plantear como objetivo general, evaluar el perfil de seguridad de las formulaciones magistrales elaboradas en el área de preparados galénicos del Centro Médico Naval “CMST” mayo – julio 2020, de acuerdo a los resultados obtenidos en las Tablas 3, 4 y 5, obteniéndose un promedio de no irritante al encontrarse un índice de irritabilidad de cero, lo que corrobora y guardando similitud con González Y. et al. (2011)⁶, con la investigación Evaluación de la irritabilidad oftálmica de la *Spirulina platensis* por un método HET-CAM. Unidad de Toxicología Experimental (UTEX) Instituto Superior de Ciencias Médicas, quienes realizaron una investigación empleando la metodología del índice de irritabilidad HET-CAM, empleándose 40 huevos fértiles con un periodo de incubación de 10 días, a la que se le administraron las sustancias de estudio y donde la membrana corioalantoidea es una estructura que se asemeja al ojo humano, hallándose como resultado que el producto evaluado no presenta hemorragia, lisis ni coagulación por lo tanto puede afirmarse que el producto es inocuo y se puede utilizar oftálmicamente; de igual forma los resultados hallados se asemejan al estudio de Inocente M. et al. (2013)¹³, Efecto irritante in vitro de formulaciones cosméticas con extracto de Camu Camu, mediante el método HET-CAM, con la finalidad de determinar el efecto irritante in vitro de formulaciones cosméticas con extracto de *Myrciaria dubia* (camu camu), mediante el método HET-CAM, hallándose como resultado una carencia de hemorragia, lisis y coagulación, concluyéndose que los productos son considerados como no irritantes y seguros; de la misma manera guarda similitud con la investigación de Murillo J. (2011)¹¹, mediante el trabajo Estudio comparativo de tres variantes del ensayo de la

membrana corioalantoidea del huevo de la gallina para la evaluación de la irritación ocular que comparó la técnica de HET-CAM con el ensayo en animales, con la finalidad de evaluar la actividad irritante ocular y demostrar que ambas técnicas ofrecen los mismos resultados, hallándose en la membrana corioalantoidea formado en los huevos fértiles de 10 días de incubación y los eritrocitos de ganado bovino, realizado en sustancias como cloruro de benzalconio, lauril sulfato de sodio hidróxido de sodio y polietilenglicol, que la sustancia propilenglicol resultó ser no irritante; concluyéndose que estas pruebas son fáciles de realizar confiables, rápidas y económicas y sustituyen a las pruebas tradicionales realizadas en conejos; así también se asemeja al trabajo de Bonilla P. (2017)²¹, mediante la tesis Actividad irritante ocular in vitro por el método del HET -CAM del extracto etanólico de la raíz, tallo y hojas de Rumex crispusL. Cuturumasa, quien concluye que los índices de irritación obtenidos al 0.5% del extracto etanólico de Hojas, de Rumex crispusL. “Cuturumasa”, es clasificada como no irritante y constituye un soporte de seguridad para continuar con pruebas de eficacia clínica; de igual forma se asemeja al trabajo de Fernández A. (2014)²², con el estudio Análisis de la toxicidad ocular de los colirios de voriconazol y fluconazol con HET-CAM, quienes encontraron como resultado en la observación de los posibles procesos dañinos que pudiesen ocurrir en los vasos sanguíneos de la membrana corioalantoidea del embrión de pollo durante un tiempo de contacto de 300 segundos, calculándose posteriormente el índice de irritación (IS, Irritation Score), concluyéndose en IS nulo para ambas muestras, no mostrando por tanto indicios de irritación aguda apreciables, considerándose por tanto aptos para su utilización desde el punto de vista toxicológico. Por tanto, este método de HET -CAM, según Murillo G. et al (2004)¹¹ a través del estudio comparativo de tres variantes del ensayo de la membrana corioalantoidea del huevo de la gallina para la evaluación de la irritación ocular, hallaron un potencial de irritación de algunas de las sustancias de referencia que están incluidas en los respectivos protocolos y se encontró correspondencia con los datos reportados en ellos, ya que la clasificación para cada una de las sustancias fue igual a la referida, encontrándose irritantes el cloruro de benzalconio, el lauril sulfato de sodio y el hidróxido de sodio; no resultó irritante el polietilenglicol, de tal forma que este comportamiento es el mismo que se ha obtenido en estudios in vivo. En consecuencia, además de ofrecer resultados confiables, esta técnica, son económicas, rápidas y de fácil realización, en comparación con el procedimiento tradicional que se realiza en conejos u otros animales de

experimentación. Por tanto, además al encontrarse un p menor a 0.05 ($p=0.000$), se acepta la hipótesis nula, es decir, el análisis de la irritación, por encontrarse negativo o no irritante, en las cremas dérmicas antimicóticas por el método HET-CAM elaborados en el Área de Preparados Galénicos del Centro Médico Naval “CMST”, los cuales pueden ser usados sin peligro alguno para la piel.

V. CONCLUSIONES

1. Del presente trabajo se concluye que los valores de temperatura, humedad relativa, días de incubado y a su vez los parámetros de peso, tamaño, pruebas de densidad, temperatura de almacenamiento y valores máximos de inicio de incubación de los huevos de gallina fértil de la raza White Leghorn, adquiridos en la “Granja Ronald”, ubicado en el distrito de Santa Clara-Ate, cumplen con los parámetros establecidos en la técnica HET- CAM – INVITTOX.
2. El grado de toxicidad de los preparados magistrales sometidos a la determinación del método HET-CAM, para así poder afirmar si poseen o no propiedades irritantes fue que a una concentración de: 0.5% y 1%, presenta un nivel de toxicidad: NO IRRITANTE.
3. El método HET-CAM (Hen’s egg test chorioallantoic membrane) es una alternativa para la evaluación de la irritación producida por preparados magistrales dérmicas y cosméticos; por su rapidez, simplicidad, sensibilidad, fácil ejecución y su relativo bajo costo, al otorgar un índice de irritabilidad negativo, demostrándose su futura utilidad en investigación.

VI. RECOMENDACIONES

1. Este método propicia la oportunidad de disminuir el número de ensayos con animales por práctica de laboratorio, por lo tanto, se recomienda su introducción de manera gradual en los ensayos de índice de irritabilidad, además de ser rápidos los análisis son económicos y seguros.
2. Es común encontrar algunos científicos que no ven con agrado la aplicación de técnicas alternas por lo tanto se recomienda realizar estudios de validación de la técnica para evitar posibles controversias al método de HET CAM.
3. Se recomienda continuar los estudios de irritabilidad a mayor profundidad y empleándose otro grupo de medicamentos o plantas medicinales, por su rapidez, sensibilidad y sencilla puesta en marcha en los servicios de farmacia, como un importante punto de partida en los estudios de toxicidad de las formulaciones oftálmicas hospitalarias, sirviendo de apoyo en la toma de decisiones para elaborar nuevas formulaciones garantizando la inocuidad de las mismas.
4. La determinación del índice de irritabilidad por el método de HET-CAM, es una técnica alternativa que debe seguir empleándose para evaluar aquellos productos donde el potencial irritante pueda poner en riesgo la salud de las personas, con la precaución de evaluar el estado de los huevos fecundados a partir del 7 día, para evitar las formaciones del embrión y esto conllevaría dificultades en el método.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Churampi L. Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (Kunth) L.H. Bailey (tumbo serrano) y su uso como activo biológico en industria cosmética. Editorial: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
2. Beatriz A, Molina J, González A, Fernández A, Cordero A. Estudio comparativo de estabilidad de tres formulaciones magistrales de Sildenafil bajo la forma de solución, obtenidas a partir de diferentes productos comerciales, Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel, Caracas – Venezuela, 2011, 42:1, pp 425-432.
3. Bruner L, Shaddock J, Essex D. Alternative methods for assessing the effects of chemical on the eye. Dermal and Ocular Toxicology. Fundamental and Methods, New York: CRC Press Inc, 2011:585-608.
4. Balls M, Bothan P, Spielmann H. The EC (European Comision)/HO (British Home Office) International calidation study on Alternatives to the Draize Eye Irritation Test. Toxicol In Vitro 2015; 9(6):871-29.
5. Álvarez F, Zarate O, Gorriti G, Jurado T. Manual de Farmacognosia y Productos Naturales Terapéuticos. Fac. F y B de la UNMSM. 2019; (1): 37-38.
6. González Y. “Evaluación de la irritabilidad oftálmica de la *Spirulina platensis* por un método HET-CAM”. Unidad de Toxicología Experimental (UTEX) Instituto Superior de Ciencias Médicas; 2017.
7. Rodríguez A. Determinación de la actividad anti-irritante del extracto etanólico de raíz de *Cnidioscolus urens* L”. Tesis para optar el grado de Químico Farmacéutico. Universidad del atlántico. Colombia, 2014.
8. Batista A. “Métodos alternativos para la evaluación inmunotoxicológica de adyuvantes vacunales”. Tesis en opción al grado científico de doctor en ciencias médicas. Universidad de ciencias médicas Santiago de Cuba. 2012.
9. Mendoza M. “Composición química y capacidad anti-irritante de extractos de cuerpo entero de *Uromoides dermestoides* (coleoptera, tenebrionidae)”. Revista Cielo. 2013, vol.20, n.1, pp.41-48. ISSN 0121-4004.
10. Taype E. Estandarización y validación del método HET-CAM para medir la irritabilidad ocular in vitro de los extractos de cinco frutos nativos del Perú utilizados en la industria cosmética. [Tesis]Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica: Lima-Perú; 2015.
11. Murillo G, Pérez U, Tur E, Vinardell MP, García G, Pascual JR. Estudio comparativo de tres variantes del ensayo de la membrana corioalantoidea del huevo de la gallina para la evaluación de la irritación ocular. Revista Toxicol 20:187-92, 2018.
12. Fernández M. Análisis de la toxicidad ocular de los colirios de Voriconazol y Fluconazol con HET-CAM Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria, ISSN 1130-6343, Vol. 38, N°. 4, 2014, págs. 300-304.

13. Inocente M. Efecto irritante in vitro de formulaciones cosméticas con extracto de Camu Camu, mediante el método HET-CAM”. Revista Horizonte Mejía S, Muñoz L. Polifarmacia en adultos mayores del Centro Mi Espacio de Sabiduría. Cuenca: Universidad del Azuay; 2017.
14. Pineda N. et al. Efecto irritante in vitro del gel elaborado con extracto acuoso del mesocarpio de *Hylocereus megalanthus* (Cactaceae) “pitahaya” por el método HET-CAM.
15. Real Academia Española y Asociación de Academias de la Lengua Española (2005). «in vitro». Diccionario panhispánico de dudas (1.ª edición). Consultado el 13 de marzo de 2020.
16. Flores O. Perfil de seguridad de las formulaciones magistrales tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de las hojas secas de *melissa officinalis* L. (toronjil) mediante el método HET-CAM.[Tesis] Universidad Inca Garcilaso de la Vega: Lima;2019.
17. Morone G. Métodos y Técnicas de la Investigación Científica. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2013.
18. Sánchez H, Reyes C. Metodología y diseños en investigación científica. Edit. Visión Universitaria: Lima – Perú. pp.2.
19. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación. 6ta. México: McGRAW-HILL/; 2014.
20. Cairampoma M. Tipos de Investigación científica: Una simplificación de la complicada incoherente nomenclatura y clasificación. Redvet. [Internet] 2015; 16(1), 1-14. [Citado 29 de Octubre 2020]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63638739004.pdf>.
21. Bonilla P. Actividad irritante ocular in vitro por el método del HET –CAM del extracto etanolico de la raiz, tallo yhojas de *Rumex crispus* L. Cuturumasa.[Tesis] Universidad Inca Garcilaso de la Vega: Lima;2017.
22. Fernández A, González M, Martínez M, Blanco J, Lamas M, Otero E. Análisis de la toxicidad ocular de los colirios de voriconazol y fluconazol con HET-CAM. [Internet] Farm Hosp. 2014;38(4):300-304 [Fecha de acceso 9 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/fh/v38n4/06original06.pdf>.

ANEXOS

ANEXO 1: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable Dependiente: Perfil de seguridad

Definición conceptual: Característica de un medicamento que le permite emplearse con una probabilidad muy pequeña de causar efectos tóxicos no justificables, mediante una apropiada relación riesgo/beneficio, lo que se encuentra condicionado por el medicamento en sí mismo y las condiciones de su prescripción y uso.

Variable Independiente: Formulaciones magistrales

Definición Conceptual: Muestra de estudio magistral farmacológica a quien se le analizará el índice de irritabilidad , conjuntamente con medicamento industrial por el método de HET-CAM.

VARIABLE INDEPENDIENTE: FORMULACIONES MAGISTRALES			
DIMENSIONES	INDICADORES	VALOR FINAL	INSTRUMENTO
Utilización dérmica	Cremas clotrimazol magistral Crema Clotrimazol industrial	Rango HET-CAM (0-0,9) No irritante (1,0-4,9) Irritante Leve (5,0-8,9) Irritante Moderado (9,0-21,0) Irritante Severo	Ficha de recolección de datos
VARIABLE DEPENDIENTE: PERFIL DE SEGURIDAD			
DIMENSIONES	INDICADORES	VALOR FINAL	INSTRUMENTO
Identificación macroscópica de la membrana coriolantoidea. Concentración de la Formulación no irritante.	Tiempo de reacción en segundos: Hemorragia Lisis Coagulación	Rango No Irritante.	Ficha de recolección de datos

ANEXO 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

INSTRUCCIONES

- Al empezar la evaluación, procure estar en un estado de equilibrio emocional y somático.
- Desarrollar las mediciones bajo las mismas circunstancias de comodidad.
- Si existe duda en la medición de una determinada unidad de análisis, elimine su evaluación.
- Registre los datos sin tachaduras ni enmendaduras

ÍNDICE DE IRRITABILIDAD TIPO CONTROL NEGATIVO				Rango índice de Irritación	Categoría HET - CAM
REACTIVO	TIEMPO DE REACCIÓN EN SEGUNDOS				
	Hemorragia	Lisis	Coagulación		
Cloruro de Sodio al 0,9 %					
Muestra Huevo 1					
Muestra Huevo 2					
Muestra Huevo 3					
ÍNDICE DE IRRITABILIDAD TIPO CONTROL POSITIVO					
Hidróxido de Sodio 0,1 N					
Muestra Huevo 1					
Muestra Huevo 2					
Muestra Huevo 3					
ÍNDICE DE IRRITABILIDAD CLOTRIMAZOL MAGISTRAL AL 0,5 % .					
Muestra Huevo 1					
Muestra Huevo 2					
Muestra Huevo 3					
ÍNDICE DE IRRITABILIDAD CLOTRIMAZOL MAGISTRAL AL 1 % .					
Muestra Huevo 1					
Muestra Huevo 2					
Muestra Huevo 3					

ÍNDICE DE IRRITABILIDAD CLOTRIMAZOL INDUSTRIAL (Bayer) AL 1 % .					
Muestra Huevo 1					
Muestra Huevo 2					
Muestra Huevo 3					

Leyenda:

Categoría HET - CAM	Rango
No irritante	0,0 -0,9
Irritante leve	1,0 -4,9
Irritante moderado	5,0 -8,9
Irritante severo	9,0 -21,0

Firma y fecha investigador

ANEXO 3: VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS
UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO "FRANKLIN ROOSEVELT"

ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA

Av. Giráldez N°542 - Huancayo

Huancayo 10 de Octubre del 2020

CARTA Nro.01-2020-HMME/DMJG/UPFR

Señor (a): Mg. Aracely Maravi Cabrera

PRESENTE

ASUNTO : VALIDEZ DE INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN

Por medio del presente me dirijo a Ud. Para saludarle cordialmente y solicitarle su participación en la validez de instrumentos de investigación a través de "juicio de expertos" del proyecto de investigación que estoy realizando, para obtener el título profesional; teniendo como tesis titulado, **PERFIL DE SEGURIDAD DE LAS FORMULACIONES MAGISTRALES ELABORADAS EN EL AREA DE PREPARADOS GALÉNICOS DEL CENTRO MÉDICO NAVAL "CMST" MAYO – JULIO, 2020**

. Para lo cual adjunto:

1. Formato de apreciación al instrumento: formato A y B.
2. Matriz de consistencia.
3. Operacionalización de variables.
4. Instrumento de recolección de datos.

Esperando la atención del presente le reitero las muestras de mi especial consideración y estima personal

Atentamente,



CONDORI RIOS, Norka Beatriz



CHAMBA SAGUMA , Cesar David

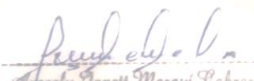
PROMEDIO DE VALORACIÓN

4

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) Muy buena

Nombres y Apellidos : Aracely Janett Maravi Cabrera
DNI N° : 20035640 Teléfono/Celular : 95602004
Dirección domiciliaria : Jr. Cuzco N° 870 Huancayo
Título Profesional : Químico Farmacéutico
Grado Académico : Magister en Educación
Mención : Docencia y Gestión Educativa



Aracely Janett Maravi Cabrera
Químico Farmacéutico
C.O.F.F. N° 20035640

Firma

Lugar y fecha: Huancayo 10 de Octubre del 2020.

UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO “FRANKLIN ROOSEVELT”

ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA

Av. Giráldez N°542 - Huancayo

Huancayo 10 de Octubre del 2020

CARTA Nro.01-2020-HMME/DMJG/UPFR

Señor (a): Mg. Karen Janet Ayala Guevara

PRESENTE

ASUNTO : VALIDEZ DE INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN


Por medio del presente me dirijo a Ud. Para saludarle cordialmente y solicitarle su participación en la validez de instrumentos de investigación a través de “juicio de expertos” del proyecto de investigación que estoy realizando, para obtener el título profesional; teniendo como tesis titulado, **PERFIL DE SEGURIDAD DE LAS FORMULACIONES MAGISTRALES ELABORADAS EN EL AREA DE PREPARADOS GALÉNICOS DEL CENTRO MÉDICO NAVAL “CMST” MAYO – JULIO, 2020**

. Para lo cual adjunto:

- Formato de apreciación al instrumento: formato A y B.
- Matriz de consistencia.
- Operacionalización de variables.
- Instrumento de recolección de datos.

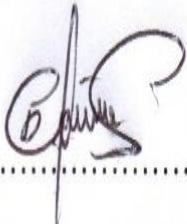
Esperando la atención del presente le reitero las muestras de mi especial consideración y estima personal

Atentamente,



.....

CONDORI RIOS, Norka Beatriz



.....

CHAMBA SAGUMA , Cesar David

PROMEDIO DE VALORACIÓN

4

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) Muy buena

Nombres y Apellidos : Karen Janet Ayala Guevara
DNI N° : 40712586 Teléfono/Celular : 979047823
Dirección domiciliaria : Jirón Los Nevados A-13 Urbanización los Andes El Tambo
Título Profesional : Químico Farmacéutico
Grado Académico : Magister en Administración.
Mención : Maestro en Gestión Empresarial



Firma

Lugar y fecha: Huancayo 10 de Octubre del 2020.

Huancayo 10 de Octubre del 2020

CARTA Nro.01-2020-HMME/DMJG/UPFR

Señor (a): Mg. Rocío López Calderón

PRESENTE

ASUNTO : VALIDEZ DE INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN


Por medio del presente me dirijo a Ud. Para saludarle cordialmente y solicitarle su participación en la validez de instrumentos de investigación a través de “juicio de expertos” del proyecto de investigación que estoy realizando, para obtener el título profesional; teniendo como tesis titulado, PERFIL DE SEGURIDAD DE LAS FORMULACIONES MAGISTRALES ELABORADAS EN EL AREA DE PREPARADOS GALÉNICOS DEL CENTRO MÉDICO NAVAL “CMST” MAYO – JULIO, 2020

. Para lo cual adjunto:

5. Formato de apreciación al instrumento: formato A y B.
6. Matriz de consistencia.
7. Operacionalización de variables.
8. Instrumento de recolección de datos.


Esperando la atención del presente le reitero las muestras de mi especial consideración y estima personal

Atentamente,



.....

CONDORI RIOS, Norka Beatriz



.....

CHAMBA SAGUMA , Cesar David

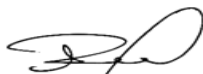
PROMEDIO DE VALORACIÓN

05

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) [↑] Muy buena

Nombres y Apellidos : Rocio López Calderón
DNI N° : 20075533 Teléfono/Celular : 954931834
Dirección domiciliaria : Jr. Rosemberg N° 327
Título Profesional : Químico Farmacéutico
Grado Académico : Magister
Mención : Problemas de Aprendizaje



Mg. Rocío Jerónima López Calderón

Firma

Lugar y fecha: Huancayo 10 de octubre del 2020.

ANEXO 4: FOTOGRAFÍAS DEL EXPERIMENTO





EL CAPITÁN DE FRAGATA S/N/F JEFE DEL SERVICIO DE FARMACIA QUE SUSCRIBE

Certifica:

Que los alumnos Norka Beatriz CONDORI RÍOS y Cesar David CHAMBA Saguma, identificados con DNI N° 71655276 y DNI N° 46833496, procedente de la Escuela Profesional de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, de la Universidad Roosevelt, realizaron su Trabajo de Investigación "Perfil de Seguridad de las Formulaciones Magistrales elaboradas en el Área de Preparados Galénicos de Centro Médico Naval "CMST", en forma virtual y presencial, en el Área de Preparados Galénicos, durante el mes de Diciembre 2020 al mes de Febrero 2021 demostrando Responsabilidad, buen trato con los Pacientes y Personal de Farmacia.

De la presente constancia a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Bellavista, 01 de Febrero del 2021

C.deF. SN Enrique MONTANCHEZ Mercado

Dirección de Salud y Centro Médico Naval "Cirujano Mayor Santiago Távara"
Av. Venezuela S/N Bellavista - CALLAO