



Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud  
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

TESIS

**“DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE  
JARABES MEDICINALES NATURALES”**

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**Bachiller: CALIXTO CONTRERAS, PERCY RICHARD**

**ASESOR: Q.F MONTEAGUDO MONTENEGRO, FABRICIO**

**LIMA – PERÚ**

**2015**

Dedico este trabajo: A mi madre Agustina, mi padre Clemente, mis hermanos y sobre todo a Dios quien me guio en los momentos más difíciles.

Se agradece por la contribución para el desarrollo de esta tesis: al laboratorio de análisis CERTILAB y a mi asesor Q.F Fabricio Monteagudo Montenegro.

## RESUMEN

La presente investigación desarrolla una evaluación microbiológica para identificar y cuantificar bacterias mesófilas aerobias viables en muestras de jarabe en base a extractos vegetales medicinales expendidos en los alrededores del mercado de La Parada. El procedimiento comprende la dilución de una alícuota de la muestra para ser incubada en un agar de enriquecimiento en el que la bacteria se nutre y fortalece, sin embargo, se nutren no solo el grupo bacteriano en cuestión sino todos los que estén presentes, motivo por el que como siguiente paso se procede a sembrar en agar selectivo para recién una vez incubado se identificó el grupo bacteriano de mesófilos aerobios mesófilos se evaluaron 10 muestras de jarabes de distinto contenido de extracto vegetal medicinal. El resultado encontrado fue que el 70% de las muestras analizadas resultaron con concentraciones superiores al límite permisible de 100 ufc/g declarándose no apto para el consumo humano, mientras que solo el 30 % aprobaron la evaluación.

## ABSTRACT

This research focuses on the development of a microbiological assessment to identify and quantify viable aerobic mesophilic bacteria in samples of syrup based medicinal plant extracts expended around La Parada market. The method comprises diluting an aliquot of the sample to be incubated in an agar enrichment in which the bacterium feeds and strengthens, however, bacterial group in question not only feed but all that are present, why that as the next step proceeds to sow selective agar newly hatched after the aerobic mesophilic bacteria group mesófilos.se evaluated 10 samples of different content syrups medicinal plant extract was identified. The result was found that 70% of the samples were analyzed at concentrations above the permissible limit of 100 ufc / ml declared unfit for human consumption, while only 30 / approved evaluation.

## ÍNDICE

CARATULA.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
INDICE DE TABLAS.....	XII
INDICE DE GRAFICOS.....	XIII
INTRODUCCION.....	XIV
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>16</b>
1.1 Descripción de la Realidad Problemática.....	16
1.2 Formulación del Problema.....	17
1.3 Objetivos de la Investigación.....	18
1.3.1 Objetivo General.....	18
1.3.2 Objetivo Especifico.....	18
1.4 Hipótesis de la Investigación.....	19
1.4.1 Hipótesis General.....	19
1.4.2 Hipótesis Secundarias.....	19
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación.....	20
1.5.1 Justificación de la Investigación.....	20
1.5.2 Importancia de la Investigación.....	21

<b>CAPITULO II MARCO TEORICO.....</b>	<b>23</b>
2.1 Antecedentes de la investigación .....	23
2.2 Bases Teóricas.....	30
2.2.1 Preparado Farmacéutico.....	30
2.2.1.1 Tipos de Preparados.....	30
A) Formas farmacéuticas solidas.....	30
A.1 Polvos .....	30
A.2 Papeles .....	31
A.3 Granulados .....	31
A.4 Capsulas .....	31
A.5 Sellos .....	31
A.6 Tabletas o comprimidos.....	31
A.7 Capsulas .....	31
A.8 Extractos (extractos solidos) .....	31
A.9 Supositorios.....	31
B) Preparados o formas farmacéuticas semisólidas .....	32
B.1 Pomadas.....	32
B.2 Pastas.....	32
B.3 Cremas.....	32
C) Preparados o formas farmacéuticas liquidas.....	32
C.1 Soluciones.....	32
C.2 Aguas aromáticas .....	32
C.3 Inyecciones.....	32
C.4 Jarabes.....	33
C.5 Pociones.....	33

C.6 Mucilago.....	33
C.7 Emulsiones.....	33
C.8 Suspensiones.....	33
C.9 Colirios.....	34
C.10 Lociones.....	34
C.11 Tinturas.....	34
C.12 Extractos Fluidos.....	34
D) Preparados o formas farmacéuticas gaseosas.....	34
D.1 Aerosoles.....	34
2.2.2 Jarabes.....	35
2.2.2.1 Tipos de jarabe.....	36
a. Jarabe simple.....	36
b. Jarabe medicado.....	36
c. Jarabe aromático.....	36
2.2.2.2 Características de los jarabes.....	36
2.2.2.3 Composición química.....	37
2.2.2.4 Métodos de preparación.....	40
2.2.3 Jarabes con extractos de droga.....	42
2.2.4 Almacenamiento, conservación y cálculos de agua libre.....	44
2.2.5 Controles de calidad del producto terminado.....	46
2.2.5.1 Físicos .....	47
2.2.5.2 Microbiológicos.....	48
2.2.6 Elaboración de preparados a base de plantas.....	48
2.2.6.1 Infusión.....	49
2.2.6.2 Decocción.....	50



2.2.6.3 Jugo.....	50
2.2.6.4 Vapores o inhalaciones.....	51
2.2.6.5 Lavativa o enema.....	51
2.2.6.6 Pomadas.....	52
2.2.6.7 Cataplasma o emplastos.....	52
2.2.6.8 Compresa.....	53
2.2.6.9 Gargarismo/colutorio o enjuague.....	54
2.2.6.10 Duchas vaginales.....	54
2.2.7 Análisis Microbiológico.....	55
2.2.7.1 Recuento y siembra en profundidad y superficie.....	56
2.2.7.2 Recuento y siembra en profundidad.....	56
2.2.7.3 Recuento y siembra en superficie.....	57
2.2.7.4 Microorganismos indicadores en la industria.....	57
a. Aerobios mesófilos .....	58
b. Enterobacteriaceae.....	60
c. Coliformes.....	62
d. Escherichia coli.....	65
e. Levaduras y hongos.....	67
f. Staphylococcus aureus.....	71

<b>CAPITULO III: METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION.....</b>	<b>75</b>
3.1 Diseño de investigación .....	75
3.1.1 Experimental.....	75
3.2 Tipo de investigación .....	75
3.2.1 Descriptiva.....	75
3.2.2 Transversal.....	75
3.3 Métodos .....	75
3.3.1 Deductivo .....	75
3.3.2 Científico .....	76
3.4 Población y muestreo de la investigación.....	76
3.4.1 Población .....	76
3.4.2 Muestra.....	76
3.5 Variables e Indicadores.....	78
3.6 Técnica e instrumentos de recolección de datos.....	78
3.6.1 Técnicas .....	78
3.6.2 Instrumentos.....	78
3.6.3 Preparación de la muestra.....	79
3.6.4 Protocolo de trabajo.....	80
3.6.5 Cálculos y expresión de los resultados.....	81
3.6.6 Informe de los recuentos en placa.....	82

<b>CAPITULO IV: PRESENTACION, ANALISIS E INTERPRETACION DE</b>	
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>83</b>
RESULTADOS.....	83
DISCUSION .....	88
CONCLUSIONES .....	89
RECOMENDACIONES .....	90
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	91
ANEXOS .....	94

## INDICE DE TABLAS

1. TABLA N°1	Presentación de Resultados de Análisis Microbiológico.....	83
2. TABLA N°2	Presentación de códigos de muestras.....	84
3. TABLA N°3	Distribución de contenido bacteriano expresado en UFC/g.....	84
4. TABLA N°4	Distribución porcentual de los resultados de análisis microbiológico según el criterio de aprobación de aerobios mesófilos viables .....	86

## INDICE DE GRAFICOS

1. <b>GRAFICO N° 1</b> Distribución de contenido de contaminantes según tipo de microorganismo.....	85
2. <b>GRAFICO N° 2</b> Distribución porcentual de resultados según criterio de aprobación.....	87
3. <b>GRAFICO N° 3</b> Informe de ensayo de reconstituyentes-tónicos proporcionado por Certificadora y Laboratorio Alas Peruanas S.A.C.....	96

## INTRODUCCION

Cada vez son más publicitadas las diferentes formas de atención de la salud llamadas alternativas o complementarias a la Medicina Moderna, muchas de ellas son presentadas como naturales o tradicionales. Por otro lado, desde el punto de vista de los profesionales de la salud, su actitud creciente es a reconocer la relativa eficacia de estas técnicas o son muy críticos y escépticos sobre ellas, pues no les reconocen los fundamentos de la ciencia y, al no ser oficiales, sus practicantes no asumirían la responsabilidad de sus procedimientos y resultados, los cuales a veces se mezclan con la estafa y graves consecuencias a la vida y a la salud. El número de las personas que acuden a la atención por estas otras formas de Medicina está en función de sus raíces culturales y a veces son opciones secundarias a la frustración o limitaciones de la Medicina oficial.

Lima, ciudad capital de Perú ha venido experimentando cambios socioculturales desde 1960 en adelante, la migración de comunidades del ande y la selva hacia la costa ha traído como consecuencia la modificación de los patrones culturales que definen la atención de la salud, por otro lado la tendencia de lo orgánico y natural ha redefinido los modelos de atención de problemas de atención de salud por la población, por supuesto es uno de los factores de mayor influencia la disponibilidad económica en relación a la elección de forma y modelo de tratamiento de las enfermedades.

En el mercado de la salud por tanto encontramos ofertas de productos naturales denominado jarabes que contienen extractos naturales de plantas medicinales que ofrecen sino garantizada seguridad y eficacia, por lo menos la máxima

inocuidad mediante su consumo. La presente investigación describe los protocolos y ensayos de calidad microbiológica realizados a diez muestras de jarabes con diferente contenido de extractos naturales con la finalidad de comprobar el nivel de contaminación microbiana que estos presentan poniendo en riesgo la salud ya en desmedro de pacientes consumidores de estas alternativas medicinales.

## **CAPITULO I:**

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

#### **1.1 Descripción de la Realidad Problemática**

El hombre desde su surgimiento fue creando las condiciones para vivir mejor, atenuar enfermedades y mejorar la calidad de vida. Pero no es en este siglo donde se utilizó por primera vez las plantas con el fin de curar, sino desde tiempos ancestrales. La gran variedad de plantas y su uso para diversas afecciones hoy en día está muy difundido en Perú y el mundo, el uso de las plantas medicinales para la cura de una enfermedad o un padecimiento cualquiera. En ese sentido cabe señalar que se denomina plantas medicinales a aquellas plantas cuyas partes o extractos se utilizan como drogas o medicamentos para el tratamiento de alguna afección o enfermedad que padece un individuo o animal. También se define como aquella que contiene en uno o más de sus órganos, sustancias o compuestos químicos que al entrar en contacto con el organismo humano son capaces de actuar sobre determinados procesos morbosos produciendo un efecto terapéutico, o bien servir como materia prima en la producción de medicamentos. Su difundo uso ha producido en el mercado de comercialización peruano una múltiple oferta de productos en base a plantas medicinales, las hay producidas por laboratorios farmacéuticos plenamente constituidos que cumplen con las buenas prácticas de manufactura sin embargo existen productos elaborados sin cumplir con las condiciones mínimas que aseguren la calidad e inocuidad del producto so pretexto de disminuir el precio y presentarse como más natural. La



presente investigación pone en relieve la necesidad de verificar si el número de unidades formadora de colonias UFC/g de bacterias mesófilos aerobias viables pondrían en alto riesgo la salud de los consumidores. Si tenemos en cuenta que su uso no requiere legalmente una prescripción médica ni mucho menos la consulta de un profesional, su uso se convierte en un arma de doble filo la tener comprobada eficacia, pero no siempre la garantía de calidad requerida.

## **1.2 Formulación del Problema**

¿Existiría una cantidad de bacterias aerobias mesófilos viables en jarabes medicinales en base a plantas naturales por encima del límite permisible descrito en la Norma Técnica AOAC 990.12, expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado de La Parada en la ciudad de Lima, en el periodo de junio a octubre de 2015?

## **1.3 Objetivos de la Investigación**

### **1.3.1 Objetivo General**

Determinar si la cantidad de bacterias aerobias mesófilos viables están por encima de los valores permitidos en jarabes medicinales en base a plantas naturales expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado de La Parada en la ciudad de Lima, en el periodo de junio a octubre de 2015.

### **1.3.2 Objetivos Específico.**

Determinar mediante ensayos microbiológicos la cantidad de UFC/g de bacterias aerobias mesófilos viables en jarabes medicinales en base a plantas naturales, expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado La Parada.

Comparar los resultados obtenidos en la evaluación microbiológica sobre la cantidad de UFC/g de bacterias aerobias mesófilos viables en jarabes medicinales en base a plantas naturales, expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado de La Parada con las especificaciones descritas en la Norma Sanitaria Aplicable a Jarabes Destinados al Consumo Humano dispuesta por la DIGESA.

## **1.4 Hipótesis de la Investigación**

### **1.4.1 Hipótesis General**

La cantidad de bacterias aerobios mesófilos viables encontradas en jarabes medicinales en base a plantas naturales superarían los límites permitidos descrita por la Norma Sanitaria Aplicable a Jarabes destinados al Consumo Humano dispuesta por la DIGESA.

### **1.4.2 Hipótesis Secundarias**

Existiría presencia de bacterias aerobias mesófilos viables en jarabes medicinales, en base a plantas naturales, expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado La Parada, en cantidad no apropiada para el consumo humano.

Los resultados obtenidos en la evaluación microbiológica sobre la cantidad de UFC/g de bacterias aerobias mesófilos viables en jarabes medicinales, en base a plantas naturales, expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado de La Parada se encontrarían por encima de lo indicado en la Norma Sanitaria Aplicable a Jarabes destinados al Consumo Humano dispuesta por la DIGESA.

## **1.5 Justificación e Importancia de la Investigación**

### **1.5.1 Justificación de la Investigación**

El presente estudio beneficiará a la sociedad en la medida que la labor del profesional Químico Farmacéutico repercute en la prevención de la salud de la comunidad. Su dedicado trabajo descarta a los productos que no cumplen con las exigencias sanitarias de los productos farmacéuticos; más aún, cuando son productos naturales que no requieren de prescripción para su consumo pudiendo ser utilizados indiscriminadamente en perjuicio de los consumidores. Por ello, procesos de control de calidad microbiológica son de extrema necesidad sobre todo cuando los insumos de estas preparaciones contienen componentes naturales manipulados por operarios que los producen, o proveedores que los comercializan, finalmente la cantidad de agua que contienen los jarabes incrementa el riesgo de crecimiento bacteriano, la posibilidad que esta contaminación se deba a una bacteria patógena lo hace más peligroso. Por lo tanto, la comprobación de las especificaciones técnicas descritas en la Norma Sanitaria Aplicable a Jarabes destinados al Consumo Humano dispuesta por la DIGESA para ese tipo de preparados farmacéuticos, es fundamental para determinar la presencia de mesófilos aerobios viables.

### 1.5.2 Importancia de la investigación

Los alimentos, los medicamentos y los tóxicos constituyen los principales compuestos xenobióticos, es decir aquellos que son extraños al organismo humano. Los medicamentos se emplean por prescripción médica, o por automedicación, responsable o irresponsable.

Los alimentos, los medicamentos y los tóxicos lícitos deben ser sometidos a una serie de controles que garanticen su calidad e inocuidad. Nos ocuparemos, en este artículo, en particular de los jarabes de origen natural.

Los medicamentos han sido y son compuestos esenciales para el ser humano y sus organizaciones sociales, que se utilizan en prevenir, curar o aliviar enfermedades. En resumen, para proteger y preservar la salud. En consecuencia, han sido considerados como un "bien social". Sin embargo, el uso de medicamentos no está exento de riesgos. En realidad, ninguna sustancia lo está. "Dosis sola facit venenum", "Solamente la dosis permite clasificar una sustancia como venenosa", como lo aseveró, con toda razón, el médico y químico, Paracelso (1493-1541). Pero, aparte de los riesgos relacionados con la dosificación, un medicamento puede ofrecer otros riesgos si una serie de condiciones durante el diseño, procesamiento, almacenamiento, distribución, prescripción, dispensación y modalidades de conservación y uso por los pacientes, no se cumplen estrictamente. Recordemos que "Riesgo" es la probabilidad estadística o contingencia, que una

sustancia afecte la salud, es decir que haga daño. Volvemos a indicar, sin embargo, que no existe riesgo cero. Los jarabes medicinales en base a plantas medicinales no son la excepción pues por más que se hayan elaborado con la mejor intención pueden ser contaminados por múltiples factores. El presente estudio pone de manifiesto la importancia de realizar ensayos microbiológicos en la búsqueda de bacterias aerobias mesófilos viables en su interior con el riesgo de causar una infección de consideración vital.

## CAPITULO II: MARCO TEORICO

### 2.1 Antecedentes de la Investigación

#### 2.1.1 Internacionales

En la investigación “Propuesta de tres pre formulaciones de un jarabe antidiarreico a base de los extractos de hojas secas de *Psidium guajava*, L. (GUAYABO). El Salvador 2009. **Membreño Canales, Enis Marisol; Menjivar Roque, Gilberto Vladimir**. Los autores establecen que la su investigación tiene como finalidad el proponer tres jarabes antidiarreicos a base de los extractos de hojas secas de *Psidium guajava*, L. (guayabo); el trabajo contempla la identificación de la especie vegetal, la obtención del extracto hidroalcohólico “tintura” por maceración, la obtención del concentrado por evaporación de la tintura, la realización de pruebas cualitativas preliminares para la identificación específica de taninos tanto en tinturas como en concentrados, la cuantificación de los taninos por el método de espectrofotometría UV-visible en tinturas como en concentrados, la producción de tres jarabes a concentraciones diferentes de extracto vegetal y por último la realización de los controles físicos en las tres pre formulaciones. La identificación y recolección de la especie en estudio se hizo en la zona paracentral del país; luego se le brindó un tratamiento previo a la muestra en laboratorio de Química General de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador y se preparó la especie vegetal para

realizar una extracción hidroalcohólica por el método de maceración; este macerado obtenido de tintura se concentró hasta la cuarta parte, luego tanto a la tintura como al concentrado se les realizaron pruebas preliminares específicas de identificación de taninos hidrolizables, para posteriormente cuantificar taninos en tintura como en el concentrado por espectrofotometría UV-visible a 700 nm de longitud y aplicando la ley de Beer para obtener los cálculos respectivos. Es de suma relevancia aclarar que la concentración de taninos con la que se formuló el jarabe empleando extracto ya concentrado, es la misma concentración de taninos que se encontró en la tintura original sin evaporar. Al producto terminado se le realizaron controles de calidad físicos oficiales, no oficiales y controles de calidad microbiológicos. El producto terminado presentado como jarabe, no se garantiza inocuo para el consumo humano ya que presenta cierta cantidad de bacterias aeróbicas, hongos y levaduras, además no se cuenta con especificaciones microbiológicas para jarabes elaborados con extractos vegetales; por esto se recomienda realizar análisis microbiológicos tanto al producto terminado como a las materias primas utilizadas en la producción. Además, se recomienda llevar a cabo estudios clínicos a las concentraciones propuestas en este trabajo para determinar el efecto terapéutico deseado.

En la investigación titulada “Análisis microbiológico de materias primas utilizadas en la elaboración de productos naturales en una



industria colombiana” **Colombia 2006. Torres Ramírez, Mausy Lorena.** La autora describe la utilización de plantas medicinales curativas recomendadas por la OMS a través de comunicados oficiales indicando la revaloración su uso en el ámbito sanitario, en atención de que el 80% de la población mundial depende de ello en lo que a la atención primaria de la salud se refiere. El estudio hace una revisión de plantas como Boldo (*Peumusboldus*), Caléndula (*Calendulaoficialis*), Sen (*Casia angustifolia Vahl*), Fucus (*Fucus vesiculosas L*) y Arthrospira (*Spirulina máxima*) a las que se les evaluó la calidad microbiológica determinando la cantidad de bacterias mesófilos aerobias viables y por otro lado bacterias patógenas como *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella s.p.Clostridiumperfringes* y *Staphylococcus aureus*. Teniendo como resultado la presencia de *Staphylococcus aureus* en la muestra analizada.

En la investigación “Elaboración y control de calidad de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantagomajor*) y comprobación de su actividad cicatrizante en heridas inducidas en ratones” Ecuador 2013. **Yambay Calderón, Paola Fernanda.** La autora establece que El uso de plantas medicinales se remontan a épocas prehistóricas, aun en nuestro siglo se sigue dependiendo de los conocimientos ancestrales de grupos indígenas y por ello se han utilizado las plantas o sus derivados para tratar y curar sus dolencias. En muchas regiones indígenas de nuestro

país, las personas que trabajan en el área agrícola, han manifestado que cuando llegan a cortarse o tener accidentes, estos colocan las hojas de berro sobre la herida para que exista una pronta cicatrización. Con base en este conocimiento cultural en la utilización de estos vegetales en el tratamiento de sus enfermedades, investigadores realizan estudios en el laboratorio a fin de comprobar los efectos de ciertas plantas sobre las diferentes enfermedades que afectan al ser humano. El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Fitoquímica, y Farmacología, en el bioterio de la Escuela Superior de Chimborazo como es la elaboración de una forma farmacéutica y control de calidad de la misma para determinar si su uso es o no adecuado , a base de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantagomajor*) , ya que estos presentan actividades - 21 - farmacológicas cicatrizantes , hemostáticas, regenerativas las mismas que se comprobaran en heridas inducidas en ratones . Los objetivos de este trabajo de investigación es elaborar una crema a base de extractos hidroalcohólicos de berro y llantén, y determinar si esta es un buen vehículo para la cicatrización; Realizar el control de calidad del producto terminado, esto en base a normas establecidas por la USP; determinar que formulación es adecuada, cual presenta mayor actividad cicatrizante con relación al tiempo de cicatrización. La creación de un fito medicamento en la actualidad es de mucha ayuda, ya que existen muchas personas que no están de acuerdo con el uso

de medicamentos químicos, que presentan algunas reacciones secundarias, que no ayudan en su aplicación, por esta razón hay también el consumo de medicina natural, en sus muchas formas farmacéuticas.

Según Lizcano Ramón, Andrea y Col. Bogotá 2008 en su investigación Evaluación de la Actividad Microbiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fito patógenos describe que el extracto de *Passiflora manicata* fue el extracto que presentó mayor efecto frente a microorganismos como E. Coli.

#### 2.1.2 Nacionales

En la investigación titulada “Validación de un método de ensayo cuali-cuantitativo para el análisis microbiológico del jarabe Tyrex a nivel intralaboratorial”. Perú 2013. **Sueros Ríos, Gaby Beatriz**. La autora establece que El presente trabajo consistió en validar un método de ensayo cuali-cuantitativo para el análisis microbiológico del jarabe Tyrex a nivel intralaboratorial, basado en la técnica propuesta por la United Stated Pharmacopea versión XXXIV (USP34). La validación del método utilizando las distintas condiciones de trabajo es necesaria y exigida para comprobar que el método a emplear es el correcto,

brindando resultados confiables y seguros. Para la ejecución del presente trabajo se usó un producto farmacéutico líquido Tyrex jarabe (Teofilina 27 mg/5 mL jarabe) el cual se utiliza para prevenir y tratar el resoplo, el asma, la bronquitis, el enfisema y las enfermedades de otro tipo que afectan al pulmón. Asimismo, se trabajó con cepas estándares sugeridas por la USP34 como: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Cándida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404; y para los ensayos cualitativos se usó: *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Salmonella thyphimurium* ATCC 14028. Antes de iniciar el presente trabajo se evaluaron los medios a usar realizando su respectivo control positivo y promoción de crecimiento, luego se procedió a comprobar los distintos parámetros estadísticos especificados en la USP 34; entre ellos tenemos para el ensayo cuantitativo: Exactitud, Precisión, Especificidad, Límite de detección, Límite de cuantificación, Linealidad, Robustez y Tolerancia; y para el ensayo cualitativo evaluamos: Robustez, Tolerancia, Límite de detección y Especificidad. El método demostró que tiene la capacidad de detectar los microorganismos de prueba en presencia del diluyente, neutralizantes y producto con un porcentaje de recuperación mayor al 70 %. Se comprobó que el método detecta y cuantifica 5 ufc/mL como la mínima cantidad de microorganismos que pueden ser detectables y cuantificables, además que es tolerante a los cambios de lotes de los medios de cultivo obteniéndose como

máximo 15% de coeficiente de variación. El método se caracteriza por ser exacto y preciso obteniéndose una desviación estándar relativa menor a 0.02 en resultados de pruebas individuales de cada analista tanto como entre ellos. Asimismo, el método presenta robustez, obteniéndose un porcentaje de cambio menor al 15% de variación en el recuento obtenido en tres tiempos distintos de incubación. Además, este método presenta una correlación de crecimiento proporcional a las concentraciones establecidas en el parámetro de linealidad obteniéndose un coeficiente de correlación mayor de 0.95 en todas las cepas de prueba. Por otro lado, el método detecta cantidades mínimas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Salmonella entérica* ATCC 14028, demostrando ser específico utilizando medios selectivos para promover el crecimiento de dichos microorganismos, presentando robustez ya que el método no es afectado por pequeñas variaciones de tiempo y es tolerante al resistir cambios tales como la diferencia de lotes de un mismo medio. En conclusión, el método demuestra ser seguro y confiable en las condiciones propuestas en este trabajo, para la detección y cuantificación de microorganismos que puedan estar presentes en el producto farmacéutico Tyrex jarabe.

## 2.2 Bases Teóricas

### 2.2.1 Preparado farmacéutico

Se denominan preparados farmacéuticos, formas medicamentosas, formas farmacéuticas o de dosificación, o simplemente preparados a los productos elaborados a partir de las drogas para poder ser administradas al organismo. Estos preparados pueden tener una o varias drogas y son confeccionadas por el farmacéutico o la industria farmacéutica. Existen en estado sólido, semisólido, líquido y gaseoso, soluciones, suspensiones, emulsiones o dispersiones coloidales. En general las drogas y preparados poseen tres nombres principales:

- a) nombre químico
- b) nombre genérico
- c) nombre registrado.

Para prepararlas se utilizan distintos excipientes según la droga: jarabe, mucílago de goma arábica, almidón. Se las puede recubrir con una capa de azúcar para mejorar el sabor y protegerlas de la acción de la humedad y del aire. Otras tienen una capa entérica para que no irrite la mucosa gástrica. Ej. Tabletas de aspirina. Entre los preparados podemos considerar:

#### 2.2.1.1 Tipos De Preparados

##### A) Formas Farmacéuticas Sólidas

A.1 Polvos: compuesta por una o varias sustancias mezcladas, finamente molidas para aplicación externa o interna. Ej.: polvo de digital. (en forma de cápsulas).

- A.2 Papeles: pequeñas hojas de papel común enceradas y transparentes dobladas, que encierran una dosis de un polvo cada una.
- A.3 Granulados: mezcla de polvos medicamentosos y azúcar, repartida en pequeños granos.
- A.4 Cápsulas: cubiertas de gelatina que se llenan con sustancias sólidas o líquidas y se administran por deglución para evitar el sabor y el olor de los medicamentos. Hay tres tipos de cápsulas: duras (para drogas sólidas); cápsulas elásticas y perlas (para líquidos).
- A.5 Sellos: envolturas preparadas con pasta de almidón y que contienen sustancias en polvo, difíciles de deglutir, pueden contener hasta un gramo de droga; cilíndricos o en forma de plato; poco utilizados.
- A.6 Tabletas o comprimidos: sólidos, generalmente discoidea, obtenida por compresión; es la forma farmacéutica más utilizada.
- A.7 Extractos (extractos sólidos): forma medicamentosa obtenida por preparación de principios activos de drogas vegetales o animales con disolventes apropiados. Ej.: extracto de belladona.
- A.8 Supositorios: es un preparado sólido de forma cónica o de bala; se ablanda o disuelve a la temperatura del cuerpo. Ej.:

supositorios de aminofilina. Óvulos: son supositorios vaginales.

## B) Preparados o Formas Farmacéuticas Semisólidas

B.1 Pomadas: es un preparado para uso externo de consistencia blanda, untuosa y adherente a la piel y mucosas. Ej.: pomada de óxido de mercurio amarilla.

B.2 Pastas: son pomadas que contienen una fuerte preparación de polvos insolubles en la base para aplicación cutánea. Ej.: pasta de óxido de zinc.

B.3 Cremas: emulsiones de aceite en agua o agua en aceite, de consistencia semisólida no untuosa o líquida muy espesa. Ej.: pomada de agua de rosa. Otras formas farmacéuticas semisólidas son: las jaleas y emplastos.

## C) Preparados o Formas Farmacéuticas Líquidas

C.1 Soluciones: son sustancias químicas disueltas en agua, para uso interno o externo. Si son usadas en la piel son lociones; por vía rectal enemas, por nebulizaciones inhalaciones y para el ojo colirios. Ej.: solución de lugol, solución acuosa de iodo, solución de iodo fuerte.

C.2 Aguas aromáticas: formada por agua destilada saturada en aceites esenciales y se prepara por destilación de las plantas o esencia con agua destilada.

C.3 Inyecciones: es un preparado líquido, solución, suspensión o raramente emulsión, constituido por drogas en vehículo



acuoso o aceitoso, estéril, y se emplea por vía parenteral. A veces son drogas sólidas en polvo a las que se les agrega un vehículo en el momento que se va a ocupar. El vehículo acuoso es el agua destilada esterilizada; el vehículo oleoso es un aceite vegetal: aceite de algodón, aceite de maní, aceite de oliva o aceite de sésamo. Las inyecciones son envasadas en a) ampollas de una dosis (1-25 ml) b) frascos ampollas o viales de varias dosis. (5-100 ml) c) frascos de vidrio (250- 100 ml) d) recipientes de plásticos de polietileno. Ej.: inyección de cianocobalamina (vitamina B12).

C.4 Jarabes: si solo es una solución concentrada de azúcar; si contiene drogas se llama jarabe medicamentoso. Ej.: jarabe de codeína.

C.5 Pociones: es un preparado líquido acuoso y azucarado que contiene una o varias sustancias medicamentosas. Ej. Poción gomosa.

C.6 Mucílago: solución coloidal acuosa, viscosa y adhesiva de gomas. Ej.: mucílago de goma arábiga.

C.7 Emulsiones: es una forma medicamentosa líquida de aspecto lechoso o cremoso. Ej.: emulsión de vaselina líquida.

C.8 Suspensiones: es un preparado líquido, de aspecto turbio o lechoso, constituido por la dispersión de un sólido en un vehículo acuoso. Si es muy densa se denomina magma o

leche (leche de magnesia); si las partículas son muy pequeñas y están hidratadas es un gel (gel de hidróxido de aluminio).

C.9 Colirios: preparado líquido constituido por una solución acuosa destinada a ser instilada en el ojo. Deben ser isotónicos, estériles y el vehículo más empleado es una solución de ácido bórico al 1.9% y no irritante. Ej.: solución de nitrato de plata.

C.10 Lociones: preparado líquido para aplicación externa sin fricción. Ej.: loción de benzoato de bencilo.

C.11 Tinturas: preparado líquido constituido por una solución alcohólica o hidroalcohólica de los constituyentes solubles de drogas vegetales o animales o de sustancias químicas. Ej.: tintura de belladona.

C.12 Extractos fluidos: preparado líquido constituida por una solución hidroalcohólica de los constituyentes solubles de drogas vegetales; en 1ml.= 1g. de droga. Otras formas medicamentosas líquidas son: elixires, vinos medicinales, linimentos, colodión, etc.

#### D) Preparados o Formas Farmacéuticas Gaseosas

D.1 Aparte del oxígeno y el óxido nitroso existen otras formas farmacéuticas gaseosas: aerosoles: son dispersiones finas de un líquido o sólido en un gas en forma de niebla, siendo las gotitas del líquido o partículas del sólido de -5 micrones de

diámetro y se administra por inhalación. Ej.: inhalación de epinefrina.

### 2.2.2 Jarabes

En general son soluciones concentradas de azúcares, como sacarosa, en agua o en otro líquido acuoso. Son preparaciones líquidas espesas, para uso interno, que contiene por lo menos el 50% de azúcar. Los aditivos medicamentosos o los extractos vegetales pueden también formar parte del jarabe. Casi siempre la concentración indicada es del 60-65% de Sacarosa. Pueden agregarse otros polioles, como la glicerina o el sorbitol, para retardar la cristalización de la sacarosa o aumentar la solubilidad de los componentes agregados. A menudo se incluye el alcohol como conservador y también como solvente de las esencias aromatizantes; la incorporación de agentes antimicrobianos puede aumentar la resistencia al ataque microbiano.

Según la USP 25: El jarabe es una solución de sacarosa en agua purificada. Contiene un preservante a menos que se use cuando se acabe de preparar.

Sacarosa.....850 g  
Agua purificada, en cantidad suficiente para hacer 1000 g

El jarabe puede contener también otros polioles (glicerina, manitol, sorbitol, etc.) para evitar la cristalización de la sacarosa o para aumentar la solubilidad de las sustancias. La Farmacopea Argentina

define al jarabe como una forma farmacéutica líquida, de consistencia viscosa característica, constituida por una solución concentrada de azúcar en agua destilada o en líquidos diversos.

#### 2.2.2.1 Tipos de jarabes

- a. Jarabe simple. Cuando para disolver la sacarosa se utiliza solamente el agua purificada, el jarabe resultante se llama jarabe simple.
- b. Jarabe medicado. Si la preparación acuosa contiene alguna sustancia medicinal agregada, el jarabe se designa con el nombre de jarabe medicado.
- c. Jarabe aromático. Un jarabe aromatizado consiste por lo general en un jarabe no medicado pero que contiene diversas sustancias aromáticas o de sabor agradable y suele utilizarse como vehículo o agente aromatizante en ciertas prescripciones, por ejemplo, jarabe de goma arábica, cereza, cacao y naranja (USP XXI). Los jarabes aromatizados son adecuados como vehículo en compuestos extemporáneos y son aceptados sin inconvenientes por niños y adultos.

#### 2.2.2.2 Características de Jarabes

Los jarabes deben ser lípidos, transparentes, por lo que deben filtrarse generalmente por filtros prensa, presentan pocos caracteres comunes: el sabor, olor y color depende de

las sustancias medicinales incorporadas. Las características físicas son más generales: la densidad, punto de ebullición, viscosidad, son constantes físicas susceptibles de ser tomadas en cuenta en los análisis.

#### 2.2.2.3 Composición química.

- a. Sacarosa. La sacarosa confiere un aumento de la presión osmótica que impide el desarrollo fúngico y bacteriano ya que sustrae de los microorganismos por ósmosis el agua que ellos necesitan para su desarrollo. Cuando está al 85% p/v de sacarosa no necesita conservadores.
- b. Principios activos. Son las sustancias o drogas principales cuya acción terapéutica caracteriza al tipo de medicamento.
- c. Conservante. Sustancias que a determinada concentración evitan la proliferación de microorganismos en los preparados farmacéuticos.
- d. Colorantes. Compuestos que tienen la finalidad de impartir color a la preparación para una mejor apariencia.
- e. Vehículo. Líquidos destinados a la solubilización o dispersión de partículas sólidas para facilitar la administración del medicamento.
- f. Co-disolvente. Un co-disolvente ayuda a incorporar la esencia o el activo en un jarabe y este co-disolvente debe declararse en la formulación.

g. Edulcorantes o saborizantes. Son sustancias destinadas a estimular los sentidos ya que éstos tienen la propiedad de enmascarar sabores desagradables en los preparados farmacéuticos. Elección del sabor para jarabes. Los agentes de sabor que emplea el farmacéutico en la confección de recetas se pueden dividir en cuatro clases principales, según el sabor del medicamento que se va a disimular, a saber tenemos:

- Sabor salado: El jarabe de canela es el mejor vehículo para el cloruro amónico y otras drogas saladas, como el salicilato sódico y el citrato férrico amónico, según H. N. Wright. para disimular sabores salados, compiló la siguiente lista de vehículos útiles, enumerados en orden decreciente de importancia: jarabe de naranja, jarabe de zarzaparrilla compuesto, jarabe aromático de eriodictina (hierba santa), jarabe de ácido cítrico, jarabe de cerezas, jarabe de cacao, jarabe de cerezo silvestre, jarabe de frambuesa, elixir de regaliz, jarabe de cacao, elixir aromático y jarabe de regaliz.
- Sabor amargo: Wright observó que el jarabe de cacao es el mejor vehículo para disimular el sabor amargo; después vienen los siguientes, enumerados por orden de importancia: jarabe de frambuesa, jarabe de cerezas, de canela, de zarzaparrilla compuesto, de ácido cítrico y de regaliz, elixir aromático, jarabe de naranja, y de cerezo

silvestre. Esta investigación se hizo con bisulfito de quinina como agente amargo.

- Sabor acre o ácido: El jarabe de frambuesa y de otras frutas es particularmente eficaz para disimular el sabor de drogas ácidas, como el ácido clorhídrico y taninos. El jarabe de gomas y vehículos mucilaginosos similares son los mejores para disimular el sabor acre de sustancias como cápsicum, ya que tienden a formar una cubierta coloidal protectora sobre las papilas gustativas de la lengua, y si una fase dispersa forma una película alrededor de cada partícula de la fase interna. El tragacanto diferencia de la goma arábica, puede servir en vehículos alcohólicos.
- Sabor acre o ácido: El jarabe de frambuesa y de otras frutas es particularmente eficaz para disimular el sabor de drogas ácidas, como el ácido clorhídrico y taninos. El jarabe de gomas y vehículos mucilaginosos similares son los mejores para disimular el sabor acre de sustancias como cápsicum, ya que tienden a formar una cubierta coloidal protectora sobre las papilas gustativas de la lengua, y si una fase dispersa forma una película alrededor de cada partícula de la fase interna. El tragacanto diferencia de la goma arábica, puede servir en vehículos alcohólicos.
- Sabor Aceitoso: Se puede disimular el mal sabor del aceite de ricino con un volumen igual de jarabe aromático de

ruibarbo, o con jarabe de zarzaparrilla compuesto, y emulsionando la mezcla con un fino chorro de agua de soda. El sabor de aceite de hígado de bacalao se disimula bien con esencia de menta piperita, y son útiles las combinaciones de limón, naranja, almendra, cilantro, geranio, cardamomo y anís. Conviene mezclar la mayor parte del agente de sabor con el aceite antes de emulsificarlo, y añadir el resto después que se forma la emulsión.

#### 2.2.2.4 Métodos de preparación

Para la elaboración de un jarabe es importante seleccionar con sumo cuidado la sacarosa y usar agua purificada desprovista de sustancias extrañas, vasos y recipientes limpios. Esta operación debe ser conducida con cuidado para evitar la contaminación y garantizar la estabilidad del producto. Preferentemente se preparan en frío. Sin embargo, como no siempre es posible proceder así, se acude al calor que puede conferir al jarabe ligera coloración, pero sobre todo ocasionar la formación de una cantidad variable de azúcar invertido. Los dos procedimientos se efectúan como sigue.

- Por disolución en caliente del azúcar.

Solución con calor. Este es el método habitual para preparar jarabes cuando el componente principal no es volátil ni termolábil y cuando se desee una preparación rápida. Por regla general, la sacarosa se disuelve, agitando, en el



correspondiente líquido calentado a ebullición. De esta forma, se consigue una rápida disolución del azúcar y, muere la mayor parte de los microorganismos. La solución se mantiene en ebullición durante 120 segundos del tiempo total del proceso. Se agrega una cantidad suficiente de agua purificada hasta completar el peso o el volumen deseado.

Para la filtración de jarabes es conveniente utilizar papeles de filtro especial (filtros para jarabes), intercalando un cono filtrante de porcelana entre el embudo y el papel del filtro, para evitar la rotura o rasgamiento de la punta de este último. Por principio, la filtración se realizará en caliente (embudo con sistema calefactor por circulación de agua caliente) para evitar la cristalización del azúcar.

Finalmente, el jarabe todavía caliente se distribuye en recipientes limpios y secos, adecuados para su uso. Los recipientes se llenarán completamente, cerrándolos enseguida y agitándolos tras su enfriamiento. Todas estas medidas son necesarias para evitar la proliferación de secundaria de microorganismos. Dado que, durante el enfriamiento se condensa vapor de agua en la parte superior de los recipientes, la capa más superficial del jarabe se diluye algo y podría favorecer el crecimiento de microorganismos; por este motivo, la agitación del recipiente, después del enfriamiento, constituye una importante medida que se debe tomar para asegurar la

buena estabilidad del jarabe. Cabe resaltar que, si el jarabe se prepara a partir de una infusión, un extracto obtenido por cocción o una solución acuosa que contiene materiales orgánicos, como savia de arce, por lo general es apropiado calentar el jarabe hasta el punto de ebullición para coagular el material albuminoso y separarlo después mediante el filtrado. Si la albúmina u otras impurezas permanecen en el jarabe existe el riesgo de fermentación en un ambiente caluroso.

- Por disolución en frío del azúcar

Este proceso se utiliza en casos en los cuales el calor se asociaría con la pérdida de componentes volátiles importantes. Cuando se elaboran cantidades mayores de 2000 ml la sacarosa debe agregarse a la solución acuosa en un frasco cuyo tamaño sea aproximadamente el doble del recipiente utilizado para el jarabe. Esta precaución posibilita la agitación activa con una solubilización rápida. Es importante tapar el frasco para evitar la contaminación y la pérdida de solución durante el proceso. Debe notarse que los jarabes obtenidos en frío, con ayuda de aparatos mezcladores, son incoloros y que lo mismo ocurre con los obtenidos por percolación (USP XIX ,1975).

### 2.2.3 Jarabes con extractos de drogas

Los jarabes con extractos de drogas se preparan de diversas maneras.

Los extractos de drogas se obtienen por maceración o percolación

mediante agua, vino o mezclas hidroalcohólica. En los extractos se disuelve la cantidad de azúcar prescrita. Hirviéndolos se consigue un notable aclaramiento, pues la ebullición hace flocular a los coloides procedentes del material vegetal utilizado (jarabes de malvavisco y jarabes de hinojo). En realidad, en algunas preparaciones, estas medidas pueden dar lugar a pérdidas de sustancias activas y, en éstos casos, se recurre sencillamente a una mezcla del extracto de la droga obtenido en frío (tintura, extracto fluido) y jarabe simple (jarabe de tomillo, jarabe de naranjas, etc).

- Alteraciones de jarabes.

Es importante que la concentración de sacarosa se aproxime al punto de saturación, pero sin llegar a él. Las soluciones diluidas de sacarosa son un excelente medio de cultivo para hongos, levaduras y otros microorganismos, pero en concentraciones del 65% p/p o más, la solución retardará el desarrollo de éstos microorganismos. Sin embargo, una solución saturada puede conducir a la cristalización de una fracción de la sacarosa al modificarse la temperatura.

Si se utiliza calor en la preparación de los jarabes es casi inevitable que se produzca la inversión de una pequeña porción de sacarosa: si el tiempo de calentamiento del jarabe se prolonga, se forma azúcar invertido en cantidades no despreciables. La inversión del azúcar durante el calentamiento se produce especialmente a valores de pH menores de 7. El azúcar invertido es más fácilmente fermentable que la sacarosa y su color es más oscuro. Sin embargo, los dos azúcares

reductores presentes en el azúcar invertido contribuyen a retardar la oxidación de otras sustancias.

El jarabe invertido se describe en la BP (Farmacopea Británica). La monografía señala que el jarabe invertido, mezclado en proporciones adecuadas con jarabe, previene la cristalización de sacarosa en la mayoría de las condiciones de almacenamiento. El calentamiento excesivo del jarabe o de la sacarosa produce la caramelización de los mismos. Este fenómeno se refleja por una coloración amarillenta o pardusca resultante de la formación de caramelo por la acción del calor sobre la sacarosa. La levulosa formada durante la hidrólisis es causante, como hemos dicho, del oscurecimiento del jarabe pues es sensible al calor y se oscurece rápidamente.

#### 2.2.4 Almacenamiento, conservación y cálculos de agua libre

Es conveniente conservar los jarabes en un lugar fresco. Un almacenamiento prolongado da lugar a la inversión paulatina de la sacarosa. La más débil proporción de ácidos orgánicos o minerales, determina su inversión, que es acelerada por la luz y por su baja densidad.

Los jarabes deben fabricarse en cantidades que puedan consumirse en el curso de algunos meses, salvo en los casos en los cuales se cuenta con métodos especiales de conservación, el método óptimo es la conservación a baja temperatura. La concentración sin sobresaturación también es una condición de conservación favorable.

En el caso de jarabes no oficiales, se aumenta, frecuentemente la conservación añadiendo una pequeña cantidad de alcohol o incorporando algún agente conservador (casi siempre, ésteres de ácido p-hidroxibenzoico).

Supongamos ahora una fórmula hipotética y el problema que representa: se trata de preparar un producto que tenga la siguiente composición por litro: 150 g de sólidos totales que no incluyen el azúcar y que ocupan un volumen aparente de 60 mL, 5% de glicerina en volumen, 5% de propilenglicol y 200 g de azúcar. ¿Qué cantidad de alcohol se necesita para conservar este jarabe?

Se calcula el equivalente de jarabe el que es igual a:

$$1- (200 \times 0.647) + (200 \times 0.53) = 200 \times 1.177 = 235 \text{ ml}$$

2- Se calcula el equivalente del agua el que será igual a:

$$(1000 - 235) \text{ mL} = 765 \text{ mL} \quad 765 \text{ mL} - 60 \text{ mL (volumen de los sólidos totales diferentes al azúcar)} = 705 \text{ mL}$$

$$705 \text{ mL} - 100 \text{ mL (volumen de la glicerina x 2)} = 605 \text{ mL}$$

Si el propilenglicol no estuviera presente en la fórmula:  $605 \times 0.18 = 109 \text{ mL}$  sería la cantidad necesaria de alcohol absoluto para conservar el preparado. Estos 109 mL representan el 10.9%, pero como hay 5% de propilenglicol debemos restar  $10.9 - 5 = 5.9\%$  que será la cantidad de alcohol necesaria para conservar el preparado.

### 2.2.5 Controles de Calidad del Producto Terminado

La industria farmacéutica representa una de las industrias más organizadas y estrictas a nivel mundial debido a que la elaboración de medicamentos debe ser realizada de forma eficaz, eficiente y de alta calidad, ya que afecta directamente a la salud de los consumidores y representa gran importancia en la economía de los estados.

Los medicamentos representan el principal producto elaborado por el hombre. Su importancia radica en la ayuda a la recuperación de la salud perdida y en la prevención de enfermedades, lo cual es de gran consideración global. Son considerados como bienes de salud, que constituyen el recurso médico y terapéutico más frecuentemente utilizado.

El mercado farmacéutico peruano está superando un ciclo recesivo, concordante con la situación del país. El asentamiento por décadas de centros de producción de propiedad de empresas extranjeras y nacionales ha permitido la formación de cuadros técnicos de alto nivel en los campos de la producción y control de calidad (Comisión para la promoción de exportaciones, 2003), a la vez, se ha visto una mayor exigencia a nivel global de estándares de calidad derivados de los acuerdos de unificación para aplicar las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) a los cuales el Perú no está ajeno, por el contrario, las empresas farmacéuticas se están comprometiendo a cumplir con dichos estándares propuestos (Organización Panamericana de Salud, 1998), y deben contar con un sistema de control de calidad que

abarque todos los aspectos del proceso de elaboración, desde las materias primas empleadas hasta los productos terminados (Ley 26842 Cap. III Art.59).

Las exigencias de los sistemas de calidad, centrados en un comienzo en los métodos químicos, hoy se aplican también a los métodos microbiológicos. Los procedimientos de prueba para la evaluación de los niveles de calidad de los artículos farmacéuticos están sujetos a diversos requisitos. Según el artículo 501 de la Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos, los ensayos y especificaciones de las monografías de la Farmacopea de los Estados Unidos y el Formulario Nacional constituyen normas legales. Los reglamentos sobre principios de Buenas Prácticas de Manufactura vigentes requieren que los métodos de prueba deben cumplir normas adecuadas de exactitud y confiabilidad. Por consiguiente, si se requiere adoptar los procedimientos analíticos farmacopéicos; éstos deben estar respaldados por suficientes datos de laboratorio que documenten su validez.

#### 2.2.5.1 Físicos:

Describen las propiedades físicas que presentan los preparados las mismas que se comparan contra los patrones y requisitos de aprobación.

–pH.

– Transparencia.

– Sabor.

- Olor.
- Color.
- Viscosidad.
- Densidad.
- Cuerpos extraños.
- Volumen deseable.

#### 2.2.5.2 Microbiológicos

Los análisis microbiológicos que se efectuaran en el presente trabajo son los que remite la Farmacopea 25 para las formas farmacéuticas de jarabes:

- Recuento de aerobios totales (método recuento en placa).
- Recuento de hongos y levaduras.
- Determinación de *Escherichia coli*.
- Determinación de *Salmonella sp.*
- Determinación de *Pseudomona aeruginosa*.

#### 2.2.6 Elaboración de preparados a base de plantas

Según la Dirección de Salud Ambiental los jarabes naturales son los jugos naturales azucararlos de productos vegetales (caña, maíz, frutas y otros), concentrados hasta la consistencia de jarabe, con un mínimo 62° Brix y sin sustancias aromáticas artificiales, ni sustancias colorantes.

Un aspecto muy importante de la fitoterapia es saber cómo administrar la planta en cada caso. Durante siglos se han ido desarrollando



numerosos métodos para administrar plantas medicinales y conseguir extraer de ellas el máximo de su actividad y su capacidad curativa. Tras escoger la planta más adecuada para nuestros propósitos, se debe elegir el modo más apropiado de administrarla.

Desde una perspectiva integral, la mejor manera de usar las plantas medicinales es administrarlas por vía interna, ya que la curación se produce desde el interior de la persona. Existe una gran variedad de formas de administración por vía interna, pero hay que elegir aquella con la cual podamos alcanzar mejor nuestro objetivo.

#### 2.2.6.1 Infusión

También llamada té, se vierte agua hirviendo sobre las plantas que se desea preparar, se tapa bien y se deja reposar por algunos minutos. Es probablemente el método más sencillo para administrar plantas medicinales, pudiendo prepararse tanto a partir de la planta fresca, como de la planta seca. No obstante, hay que tener en cuenta que una parte de hierba seca se corresponde con tres de hierba fresca, debido al alto contenido de agua de esta última. Se prepara colocando 1-2 cucharadas de la planta en una taza, agregarle agua hirviendo, tapar, dejar reposar de 5-10 minutos, colar, endulzar al gusto y beber caliente.

Las infusiones suelen estar indicadas para órganos de la planta como hojas, flores, o tallos verdes, en los que los principios activos de interés resultan fácilmente accesibles. Si se quiere

preparar infusiones a partir de corteza, raíces, semillas o resina, conviene pulverizarlos previamente, para romper las paredes de algunas células y facilitar la extracción de los principios activos, sin embargo, es mejor emplear la decocción. Las semillas, como las de anís, deben ser machacadas ligeramente antes de preparar la infusión, para permitir la salida de los aceites esenciales de las células. Las infusiones de las hierbas aromáticas en general deben prepararse en cacerolas bien cerradas, para impedir un exceso de evaporación de los aceites esenciales volátiles.

#### 2.2.6.2 Decocción

Si las plantas o partes de la planta que vamos a emplear son leñosas o simplemente duras, es preferible hacer con ellas una decocción y no una infusión, ya que se asegura la extracción de todos los principios solubles contenidos en la planta. Raíces, rizomas, madera, cortezas, frutos secos y algunas semillas son de consistencia dura y sus paredes celulares muy resistentes, por lo que es necesario más calor que en las infusiones; además, la planta debe hervir junto con el agua.

#### 2.2.6.3 Jugo

Los jugos se obtienen al exprimir o licuar las plantas frescas o sus frutos. En el caso de algunos tubérculos o raíces, frutos poco carnosos o secos se recomienda ponerlos en remojo durante 8-12 horas antes de exprimirlos. Para su preparación

se debe tomar una buena cantidad de planta fresca, lavarla colocarla en un recipiente adecuado y machacarla. Extraer el jugo poniendo la pasta en un lienzo limpio y exprimir con fuerza. Los jugos deben ser preparados justo antes de tomarlos pues se descomponen rápidamente.

#### 2.2.6.4 Vapores o inhalaciones

Los vapores de ciertas plantas emitidos por la acción del calor del agua caliente, son frecuentemente utilizados para el tratamiento de las afecciones de la garganta y las vías respiratorias.

Cuando la planta o sus derivados se queman directamente en el fuego de un brasero o incensario o los vapores se liberan al ambiente, se dice que es un Sahumerio. Es muy tradicional para aromatizar, desinfectar o invocar condiciones propicias.

#### 2.2.6.5 Lavativa o enema

Es la aplicación de un preparado que se introduce a través del ano con una técnica especial que debe hacerse practicando antes de usarse. Se aplica preferiblemente en ayunas y en pacientes que permanecerán acostados por lo menos en la siguiente hora.

En su preparación se debe obtener un cocimiento o infusión, cuando este tibio se pone en un recipiente conectado a una manguera, cuyo extremo tienen una cánula apropiada; colocar al paciente recostado sobre el lado derecho, con la ayuda de

vaselina introducir la punta de la manguera en el ano, abrir la llave y dejar correr. Después de la aplicación se producirá una deposición acuosa. La cantidad recomendada varía entre 500-1500 ml, dependiendo del peso del paciente y el efecto deseado.

#### 2.2.6.6 Pomadas

Las pomadas o ungüentos son preparaciones semisólidas de aplicación directa sobre la piel. El método más sencillo de preparar pomadas es mediante el uso de vaselina como base. A pesar de la desventaja de ser un material inorgánico, presenta algunas ventajas, como el hecho de ser fácil de manejar, lo que hace que la pomada se prepare rápidamente. Además, la piel no absorbe la vaselina, por lo que está actúa únicamente como vehículo del principio activo.

El procedimiento básico para preparar una pomada es hervir a fuego lento dos cucharadas soperas de la planta en 200 g de vaselina durante aproximadamente diez minutos. Es posible usar una sola planta o una mezcla de raíces secas, hojas o flores.

#### 2.2.6.7 Cataplasma o emplasto

Se prepara machacando la parte medicinal de la planta, se calienta y aplica directamente sobre el área que se desea tratar, en el emplasto se mezcla la planta con una harina, logrando una pasta que se aplique igual que la cataplasma. Se

administran para calmar dolores e inflamaciones, madurar abscesos y resolver catarros o inflamaciones de las vías respiratorias.

Se prepara de la siguiente forma: recoger un manojo de planta tierna y fresca, lavarla bien con agua. Machacarla hasta lograr una pasta. Envolver en un paño limpio y colocar sobre el área afectada. Las cataplasmas también pueden realizarse con hierbas secas, mezclándolas con agua hirviendo y haciendo una pasta, que a la temperatura adecuada se aplica en el área afectada. En el caso de emplasto de cocina la harina (trigo, avena, cebada, o linaza) y se le incorpora la planta deseada.

#### 2.2.6.8 Compresa

Las compresas o fomentos son un método muy eficaz para aplicar sustancias medicamentosas a la piel, de cara a acelerar el efecto del tratamiento. Una compresa se prepara con una tela (de hilo, gasa, algodón), que se empapa en una infusión o decocción caliente sobre la zona afectada. Dado que el calor aumenta el efecto de las plantas, habrá que cambiar la compresa cuando se enfríe o colocar sobre ella un plástico o papel encerado y encima una botella de agua caliente, que se cambiará cuando sea necesario.

#### 2.2.6.9 Gargarismo/colutorio o enjuague

Es la aplicación de un líquido a la cavidad oral. Se usa para lograr acción local en la boca o garganta y así limpiar estas de moco, bacterias o impurezas.

Su preparación requiere obtener una infusión cocimiento o jugo de la planta. Tomar un sorbo, echar la cabeza para atrás y efectuar un sonido similar a la letra A, con la lengua hacia fuera; repetir varias veces expectorando el líquido cada vez.

#### 2.2.6.10 Duchas vaginales

Se trata de otra forma de aplicación de hierbas medicinales por vía externa mediante aplicación vaginal. Siempre que sea posible conviene preparar una infusión o decocción nueva para cada aplicación. Una vez preparada, se deja enfriar hasta una temperatura que valla a resultar agradable y se pasa al aplicador de duchas vaginales. Se introduce el aplicador en la vagina dejando que el líquido fluya al interior de está. Dado que el líquido tenderá a salirse, es aconsejable sentarse en el bidé. No es necesario mantener el líquido dentro para que actúe. Puede repetirse el proceso tres veces al día, sin embargo, si tras un periodo de tratamiento de tres a siete días (unido a un tratamiento adecuado por vía interna), no se aprecia mejoría, se deberá consultar a un especialista.

### 2.2.7 Análisis Microbiológico

El análisis microbiológico en la industria de farmacéutica y de alimentos se constituye en una herramienta básica para el control de materias primas, procesos y productos y manipuladores, ya que permite establecer el valor grado de contaminación biológica de estos, por esta razón el control microbiológico es parte fundamental en todo el proceso

Los principales objetivos del análisis microbiológico son:

- Asegurar que el alimento cumpla con las normas estatutarias.
- Que se ajuste a normas internas establecidas por la empresa que los procesa y a las que exija el comprador.
- Que las materias alimenticias que llegan a la planta para ser procesadas cumplan las normas exigidas y pactadas con el productor.
- Que se mantenga el control del proceso y la higiene de la línea de fabricación. (Hayes, 1993).

Los métodos de examen microbiológico utilizados para controlar la calidad del jarabe en base a extractos naturales son en sí mismos muy variados y dependientes, en gran parte del alimento que va a ser analizado.

Para el análisis microbiológico se debe tomar un peso conocido del jarabe (10 o 25 g). El jarabe se debe adicionar en un diluyente como agua peptonada al 0.1%. El tratamiento implica una homogenización mecánica o en Stomacher. El volumen del diluyente utilizado generalmente es nueve veces mayor que la muestra; para 25 g se

utilizan 225 ml de diluyente de forma que se obtenga un homogenizado de dilución 10-1, a partir de la cual se preparan las correspondientes diluciones seriadas en base 10, dependiendo de la calidad microbiológica del producto objeto de análisis. (Hayes, 1993)

#### 2.2.7.1 Recuento y Siembra en Profundidad y Superficie

Cada tipo de recuento de microorganismos viables es potencialmente útil para fines específicos. Los recuentos de bacterias viables se basan en el número de colonias que se desarrollan en placas de agar que han sido previamente inoculadas con cantidades conocidas de alimento diluido e incubadas en condiciones ambientales predeterminadas. Tales recuentos se denominan, en algunos casos con evidente error, recuentos totales en placa, cuando en realidad únicamente pueden contarse aquellas bacterias que pueden crecer en condiciones ambientales elegidas; pues se pueden cambiar las condiciones ambientales, las de incubación, la composición del medio (añadiendo inhibidores selectivos al medio o agentes con actividad de superficie o colorantes) favoreciendo así el crecimiento de uno u otro microorganismo. (ICMSF, 2000).

#### 2.2.7.2 Recuento y Siembra en Profundidad

Esta técnica se caracteriza fundamentalmente por la recuperación de células bacterianas viables. Una célula viable se define como la que es capaz de dividirse para dar lugar a descendencia y la forma habitual para llevar a cabo un recuento



de este tipo, es determinado por el número de células capaces de generar colonias sobre la superficie de un medio sólido. El subracional que subyace en este tipo de prueba es que cada célula viable puede dar lugar a una colonia. (Anderson y Calderón, 1999) En esta técnica un volumen no mayor de 1 ml de la dilución apropiada se mezcla con el medio de cultivo fundido. La placa se incuba hasta la aparición de colonias contables (ICMSF, 2000).

#### 2.2.7.3 Recuento y Siembra en Superficie

Este tipo de recuento se define como un procedimiento en el cual cada célula viable puede formar una colonia en placa con agar específico para el microorganismo, donde un cierto volumen de cultivo diluido que no suele ser superior a 0.1 ml se extiende sobre la superficie de una placa con medio sólido utilizando una asa estéril o escobillón de vidrio. La placa se incuba en un ambiente predeterminado, hasta que aparecen las colonias y se cuenta su número. (NTC 4092).

#### 2.2.7.4 Microorganismos Indicadores en la Industria

El análisis rutinario de los alimentos para poner de manifiesto un amplio rango de bacterias patógenas resultaría poco práctico para la mayoría de las industrias. Es por esto que se ha convertido en práctica corriente investigar en los jarabes la presencia de grupos indicadores que determinen la posibilidad de la existencia de microorganismos causantes de

intoxicaciones o de otros riesgos asociados al crecimiento microbiano.

Por ello se le denominan microorganismos indicadores y se catalogan frecuentemente como de gran importancia al establecer la seguridad y calidad microbiológica de los alimentos.

Un microorganismo dado puede actuar como índice, como indicador o los dos simultáneamente, incluso en un mismo alimento. A pesar de que actualmente es posible detectar casi cualquier tipo de microorganismo patógeno, se siguen llevando a cabo análisis de microorganismos determinados como marcadores por razones de economía, rapidez y sensibilidad. Los principales microorganismos empleados como indicadores son: bacterias Mesófilos aerobias, Coliformes, Enterococos, Enterobacteriaceae y los hongos y levaduras.

a. Aerobios mesófilos.

Los microorganismos aerobios mesófilos son el grupo más grande de indicadores de calidad de los alimentos. Se definen como un grupo heterogéneo de bacterias capaces de crecer en un rango de temperatura entre 15 – 45°C, con un óptimo de 35°C, siendo la mínima de 15 a 20 °C y la máxima de 45°C. Casi todos los agentes patógenos humanos son mesófilos, como es de esperar, pues la temperatura corporal humana es, casi de forma constante, de 37°C. En productos terminados son

empleados como indicadores de vida útil. El número de microorganismos aerobios mesófilos encontrados en un alimento ha sido uno de los indicadores microbiológicos de calidad más comúnmente utilizado. El recuento de la flora aerobia mesófila tiene un valor limitado a la hora de juzgar la seguridad de los alimentos. Esta determinación permite obtener información sobre la alteración incipiente de los alimentos, su probable vida útil, la descongelación incontrolada de los alimentos o los fallos en el mantenimiento de las temperaturas de refrigeración. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. Ahora bien, salvo en alimentos obtenidos por fermentación, no son recomendables recuentos elevados.

Para el recuento de mesófilos aerobios se emplean medios de cultivo sin inhibidores para permitir el crecimiento de los microorganismos. No aplica para productos enlatados como tampoco para productos fermentados, ya que, por la naturaleza de ese tipo de alimentos, el recuento no sería representativo. (ICMSF, 2000)

El recuento de mesófilos aerobios permite:

- Verificar efectividad de los procedimientos de limpieza y desinfección.

- Determinar si las temperaturas aplicadas en los procesos fueron las adecuadas.
- Determinar el origen de la contaminación durante los procesos de elaboración de alimentos.
- Verificar condiciones óptimas de almacenamiento y transporte.
- Obtener información acerca de la vida útil de los alimentos.
- Indicar alteración incipiente en ciertos alimentos.

Los métodos utilizados habitualmente para el recuento de la flora aerobia mesófila son:

1. Método de recuento en placa, también denominado método en placa de microorganismos aerobios o método de recuento en placa por siembra en todo el medio (revisado por Hartman y Huntsberger, 1961; Angelotti, 1964).
2. Método de recuento en placa de siembra por extensión en superficie (Reed y Reed, 1948; J.J.R. Campell y Konowalchuck, 1948; Gaudy y col., 1963; D.S. Clark, 1967).
3. Método de recuento en placa por siembra de gotas en superficie (Miles y Misra, 1938; Sharpe y Kilsby, 1971).

b. *Enterobacteriaceae*

La familia *Enterobacteriaceae* incluye bacilos gram negativos anaerobios facultativos, inmóviles o móviles con flagelos peritricos, con necesidades nutricionales sencillas. Las propiedades metabólicas de *Enterobacteriaceae* son muy útiles para caracterizar sus géneros constituyentes. Los miembros de

esta familia, a menudo denominados entero bacterias o bacterias entéricas, degradan azúcares mediante la ruta de Embden-Meyerhof y escinden el ácido pirúvico para producir ácido fórmico en fermentaciones del ácido fórmico. Las bacterias entéricas producen grandes cantidades de gas durante la fermentación del azúcar, como las especies de *Escherichia*, tiene el complejo hidrogenilasa fórmica que degrada el ácido fórmico a H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. Esta familia puede dividirse en dos grupos, en función de sus productos de fermentación. La mayoría llevan a cabo una fermentación ácido-mixta y producen principalmente Lactato, Acetato, Succinato, Formionato y Etanol. De la fermentación butanodiolica, los productos principales son butano, etanol y CO<sub>2</sub>. Debido a que las bacterias entéricas son de aspecto tan similar, normalmente se utilizan pruebas bioquímicas para identificarlas tras un examen preliminar de su morfología, movilidad y crecimiento. (Prescott *et al.*, 1999). Las pruebas usadas para medir características metabólicas de Entero bacterias son: utilización de hidratos de carbono, actividad de o-nitrofenil-D-galactopiranosido (ONPG), producción de indol, rojo de metilo, pruebas de Voges-Proskauer, utilización de citrato, producción de ureasa, descarboxilación de la lisina, arginina y ornitina, producción de fenil-alanina desaminasa, producción de H<sub>2</sub>S y movilidad. (Prescott *et al* 1999; Koneman,

1999). La presencia considerable de *Enterobacteriaceae* en alimentos indica un tratamiento inadecuado y/o contaminación posterior al tratamiento; más frecuentemente a partir de materias primas, equipos sucios o manejo no higiénico. Igualmente, su presencia de *Enterobacteriaceae* indica multiplicación microbiana que hubiera el crecimiento de toda la serie de microorganismos patógenos y toxigénicos. (ICMSF, 2000) Los métodos para la detección de *Enterobacteriaceae* implican el enriquecimiento de las muestras de alimento en agua peptona tamponada o en caldo tripticasa soya y la detección de los microorganismos oxidasa positiva a partir de su crecimiento subsiguiente en agar bilis lactosa glucosa rojo neutro cristal violeta. Este procedimiento estimula el desarrollo de los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* presente en alimentos. Entre los procesos existentes para la detección de *Enterobacteriaceae* se encuentra: prueba de ausencia presencia, recuento por siembra en placa y pruebas confirmatorias. (ICMSF, 2000).

c. Coliformes

Este grupo de microorganismos comprende varios géneros de la familia *Enterobacteriaceae*, capaces de fermentar la lactosa, están ampliamente difundidos en la naturaleza, agua y suelo. También son habitantes normales del tracto intestinal del hombre y animales de sangre caliente. Las bacterias coliformes

son capaces de fermentar la lactosa a 35°C con producción de gas. Dentro de los coliformes totales se pueden distinguir dos tipos, por un lado, están los coliformes fecales (CF), que provienen del tracto intestinal de animales de sangre caliente y que serían los mejores indicadores de riesgo de afecciones humanas, y por otro lado existe otro grupo de coliformes que son residentes naturales en el suelo y agua. (Madigan et al., 2004; Perdomo et al., 2001) Las principales bacterias coliformes son *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*. La primera se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal del hombre y de los animales y raramente aparece en otro lugar, mientras que *Enterobacter aerogenes* se asocia normalmente con la vegetación y solo ocasionalmente aparece en el intestino. Su presencia en alimentos representa mala calidad higiénica en el proceso, falta de higiene de los manipuladores o recontaminación después de proceso. Estas, si bien no son generalmente patógenas de por sí, son indicadores de presencia de microorganismos potencialmente patógenos y por lo tanto son un índice de deficiencias sanitarias. (Perdomo et al., 2001) Los métodos convencionales para la determinación de coliformes se basan en la técnica del NMP, este método fue dado a conocer por McCrady en 1915, no es un método de análisis exacto y al igual que en la técnica de recuento en placa requiere la preparación de diluciones de las muestras de

alimentos, de las cuales se toman alícuotas para sembrar en tubos con medio apropiado. El número de microorganismos en la muestra original se determina usando las tablas normales del NMP. El método es de por si estadístico, y los resultados generalmente son más elevados que los resultados del recuento en placa. (Jay, 2002) Los procedimientos para la detección de coliformes difieren en los medios de cultivo empleados, en un método se emplea caldo lauril sulfato triptosa, seguido de la confirmación de los tubos positivos de gas en caldo lactosa bilis (2%) verde brillante y la incubación se hace entre 35 y 37°C. Otro método emplea solamente el caldo de Mac Conkey finalmente el ultimo procedimiento emplea caldo lactosa bilis (2%) verde brillante con una posterior confirmación en placas de agar bilis lactosa rojo neutro cristal violeta o de agar Endo. (ICMSF, 2000).

Para la determinación de coliformes fecales existen dos métodos: el primero emplea caldo E.C con incubación a  $45.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$  y las siembras se hacen a partir de tubos de caldo lauril sulfato triptosa gas positivo. El segundo, ampliamente extendido en Europa, utiliza caldo lactosa bilis (2%) verde brillante con incubación a  $44 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ , haciéndose la siembra a partir de tubos de caldo Mac Conkey gas positivos. (ICMSF, 2000).



d. *Escherichia coli*

La especie *Escherichia coli* comprende bacilos gram negativos, no esporulados y con flagelos peritricos en el caso de ser móviles. Los cultivos son anaerobios facultativos, citocromo oxidasa negativos y sensibles al cianuro potásico, reducen los nitratos a nitritos y poseedores de una proporción G+C de 39 a 59% en su DNA. El crecimiento a partir de pequeños inóculos se inicia a un intervalo de pH entre 4,4 y 8,8, a un rango biocinético de 9-44°C y en gradientes salinos de 0-0,65%. Fermenta gran variedad de azúcares, tales como arabinosa, el manitol, la glucosa y la xilosa, produciendo una mezcla de ácidos, etanol, CO<sub>2</sub> e hidrógeno. Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales. Las investigaciones ecológicas han demostrado que *E. coli* proviene del tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, si bien puede sobrevivir e incluso multiplicarse en otros nichos apropiados. Por lo tanto, la presencia de esta bacteria indica que puede haber existido contaminación fecal y que el consumidor podría estar expuesto a patógenos entéricos cuando ingiere el alimento. Para la evaluación higiénica de los alimentos crudos o de productos que no han sido sometidos al tratamiento de inocuidad completo mediante calor, *E. Coli* es el microorganismo índice más válido. Para la detección de

Escherichia coli comúnmente se utilizan las pruebas para coliformes y una de confirmación a través de las pruebas IMViC (indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato sódico). (ICMSF, 2000)

En el análisis de agua E. coli es el indicador clásico de la posible presencia de patógenos entéricos. Hay una relación directa entre el número de E. coli e intensidad de contaminación fecal, cuando mayor es el número, mayor es la contaminación. En los alimentos la presencia y concentración de E. coli, incluso en mayor número, no implica necesariamente una contaminación fecal intensa reciente. Su número está influenciado por muchos factores como crecimiento actual en el alimento, deficiencia en la limpieza del equipo o contaminación a partir de las personas manipuladoras del alimento. Por lo tanto, lo que puede concluirse es que la contaminación fecal directa o indirecta, tuvo lugar en alguna fase de su obtención y que la seguridad sanitaria del alimento es cuestionable. (Hayes, 1993)

Las cepas de E. coli que provocan la enfermedad diarreica se clasifican en grupos específicos basados en propiedades de virulencia, mecanismos de patogenicidad, síndromes clínicos y serogrupos O:H diferentes. Estas clases incluyen: cepas de E. coli entero patógenas (EPEC), cepas de E. coli enterotoxigenicas (ETEC), cepas de E. coli entero invasoras (EIEC), cepas de E. Coli de adherencia difusa (DAEC), cepas

de *E. coli* entero agregantes (EAggEC) y cepas de *E. coli* entero hemorrágicas. (Doyle, 1997).

e. Levaduras y hongos

Los hongos y levaduras son microorganismos eucariotas, pueden ser unicelulares o pluricelulares. Las levaduras son hongos con forma oval (5-20  $\mu\text{m}$ ) inmóviles y que se dividen por diversos mecanismos, especialmente por gemación. Deben considerarse como hongos que han perdido su forma filamentosa y se han convertido en organismos unicelulares. (Tortora, 1993) La mayoría de los hongos, sin embargo, son pluricelulares o filamentosos y se caracterizan por estar constituidos por filamentos ramificados o hifas que se desarrollan y entrelazan formando micelio. Existe un micelio vegetativo adosado a la superficie del sustrato (suelo, plantas, alimentos) y un micelio aéreo o reproductor, donde se forman las esporas (sexuales y asexuales). (Alexopoulos, 1966) Los hongos filamentosos y levaduras son en su mayoría saprófitos, hallándose libres en la naturaleza, especialmente en la materia orgánica en descomposición. Algunas especies son parásitas, formando parte de la flora normal, como por ejemplo *Cándida albicans*, que es una levadura y puede comportarse como oportunista y resultar patógena cuando se produce una disminución en los mecanismos de resistencia del individuo. Otras especies de hongos pueden producir durante su

desarrollo sustancias tóxicas o micotoxinas como, por ejemplo, las aflatoxinas producidas por *Aspergillus flavus*, que es un hongo filamentoso. Por otra parte, algunos hongos son difásicos, es decir, unas veces se comportan como hongos filamentosos y otras como levaduras. (Anderson Y Calderón, 1999) Las levaduras y los mohos crecen más lentamente que las bacterias en los alimentos no ácidos que conservan humedad y por ello pocas veces determinan problemas en tales alimentos. Sin embargo, en los alimentos ácidos y en los de baja actividad de agua, crecen con mayor rapidez que las bacterias, determinando por ello importantes pérdidas por alteración de frutas, jugos, vegetales, quesos, productos derivados de los cereales y encurtidos, así como los alimentos congelados y en los deshidratados, cuyo almacenamiento se realiza en condiciones inadecuadas. Además, existe el peligro potencial de producción de micotoxinas por parte de los hongos. Por lo tanto, los mohos y las levaduras son los agentes alterantes de un número importante de alimentos. (ICMSF, 2000) Las condiciones necesarias para que un hongo crezca en superficie son: existencia de esporas, base nutriente, humedad y temperatura entre 4° y 38° C. En la práctica, los hongos filamentosos y las levaduras también se diferencian en el laboratorio en dos grupos según el aspecto macroscópico de sus colonias: las levaduras forman colonias húmedas,

cremosas, opacas o pastosas, y los hongos filamentosos producen colonias algodonosas, lanosas o pulverulentas.

Los hongos a través de sus esporas, micotoxinas presentes en alimentos y por la emisión de compuestos volátiles orgánicos, pueden producir diferentes tipos de enfermedades o alteraciones de la salud:

- Enfermedad infecciosa patogénica: aspergilosis.
- Reacciones alérgicas, como rinitis y asma.
- Neumonitis por hipersensibilidad.
- Cáncer debido a micotoxinas carcinogénicas.
- Desordenes inmunológicos por micotoxinas inmunosupresivas
- Reacciones tóxicas por micotoxinas.
- Reacciones de inflamación debidas al 1,3-glucano, compuesto de la pared celular de los hongos.
- Irritación debida a compuestos volátiles orgánicos fúngicos como por ejemplo alcohol.
- Síndrome del edificio enfermo, entre otros. (Romejo, 2005).

La identificación de los hongos filamentosos se basa en el examen macroscópico de la colonia y en sus características microscópicas. Semejanzas macroscópicas como la forma de la colonia, el color de la superficie, la textura y la producción de pigmentos son muy útiles para la identificación. En general la morfología microscópica de los hongos es estable y presenta pocas variaciones. La identificación definitiva se basa en la

norma característica, método de producción y ordenamiento de las esporas, siendo también importante el tamaño y la disposición de las hifas. (Adams & Moss, 1997) Waksman (1922) sugirió el uso de medios acidificados para el recuento de mohos del suelo y a partir de la fecha se adoptó esta técnica para el recuento de hongos y levaduras en alimentos. Para inhibir el crecimiento de bacterias en estos medios se han utilizado antibióticos como cloranfenicol, estreptomicina, ciclo tetraciclina, oxitetraciclina y gentamicina. La mejor incubación de los cultivos se sitúa alrededor de 22°C y el tiempo de incubación más adecuado es de cinco días. Alguno de los medios de cultivo empleados para el aislamiento de hongos y levaduras son el agar Rosa de bengala y el agar oxitetraciclina gentamicina extracto de levadura glucosa (OGY). (Mossel, 2003).

La identificación de los hongos filamentosos se basa en el examen macroscópico de la colonia y sus características microscópicas. Semejanzas microscópicas como la forma de la colonia, el color de la superficie, la textura y la producción de pigmentos son útiles para la identificación. (Adams & Moss, 1997) En general, la morfología microscópica de los hongos es estable y presenta pocas variaciones. La identificación definitiva se basa en la forma característica, método de producción y ordenamiento de las esporas, siendo también importante

conocer el tamaño y la disposición de las hifas. (Adams & Moss, 1997).

f. *Staphylococcus aureus*

Coco Gram positivo que crece en racimos perteneciente a la familia Micrococcaceae, aerobio y anaerobio facultativo y catalasa positiva. Su temperatura óptima de crecimiento es 37°C, pero logrando desarrollarse hasta los 10° C o ligeramente menos. Algunas cepas de *S. aureus* producen un exopolisacárido que puede evitar la fagocitosis del microorganismo por parte de los leucocitos polimorfo nucleares. Además, produce varios tipos de hemolisinas las cuales le ayudan a combatir el sistema inmunológico del hospedador. (Koneman, 1999; Madigan et al, 2004; Jay, 2002; Hayes, 1993)

La intoxicación alimentaria estafilocócica es un síndrome caracterizado por náuseas, vómitos, diarrea, malestar y debilidad general. Los síntomas comienzan a manifestarse de 1 a 6 horas después de consumido el alimento. (ICMSF, 2000) *S. aureus* ha sido ampliamente caracterizado, ya que se sabe que este microorganismo produce una gran variedad de productos extracelulares. Muchos de ellos, como las enterotoxinas estafilococales, son factores virulentos que han estado implicados en enfermedades de humanos y animales. Estas enterotoxinas elaboran un juego de propiedades biológicas que causan al menos 2 enfermedades humanas comunes,

síndrome de shock tóxico e intoxicaciones debidas a Staphylococcus en alimentos. (Doyle, 1997). Si en un alimento asociado a un brote es identificado S. aureus también se debe estudiar la producción de entero toxinas, lo cual incrementa la complejidad del ensayo, ya que es usual que S. aureus produzca una o más toxinas simultáneamente.

Comúnmente las entero toxinas estafilococales han sido divididas en 5 grandes clases serológicas (A, B, C, D, E) debido a sus propiedades antigénicas, pero en los últimos años se han identificado 9 clases más (G hasta O). Siendo la A la enterotoxina más comúnmente recuperada de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. (Vanegas et al, 2006)

Las intoxicaciones debidas a Staphylococcus en alimentos están clasificadas como las causas más prevalentes de gastroenteritis en el mundo. Esto se debe a la ingestión de una o mas enterotoxinas estafilocócicas preformadas en alimentos contaminados por miembros del género Staphylococcus, en donde predomina Staphylococcus aureus. (Doyle, 1997)

La principal fuente de contaminación de los alimentos por Staphylococcus se debe a la manipulación de estos por parte de personas contaminadas, ya que los humanos son el principal reservorio de este microorganismo. Si bien muchas especies del género Staphylococcus se consideran habitantes normales del cuerpo humano, Staphylococcus aureus es el patógeno más



destacado. En los humanos, las fosas nasales son los sitios de colonización predominantes, aunque se pueden encontrar células de *Staphylococcus aureus* en diferentes sitios de la piel. La diseminación de *Staphylococcus aureus* entre humanos y de los humanos a los alimentos puede ocurrir por contacto directo o indirecto por fragmentos de piel. (Doyle, 1997)

Algunas propiedades únicas de resistencia de *Staphylococcus aureus* facilitan la contaminación y crecimiento en alimentos. Afuera del cuerpo humano *Staphylococcus aureus* es uno de los patógenos humanos no esporo formador más resistente, pues puede sobrevivir por extensos periodos de tiempo. Es por esto que, para algunos alimentos procesados o tratados, *Staphylococcus aureus* es un buen indicador del grado de contacto humano, o con alimentos naturales no tratados de origen natural dentro de la fábrica de alimentos (ICMSF, 2000) Por tal razón se debe realizar la búsqueda de *Staphylococcus aureus*; pues su presencia indica insuficiencia en los tratamientos con calor como pasteurización de la leche o cocción de la carne y en el uso de agentes químicos sanitizantes que generalmente destruyen a este microorganismo. La presencia de *S. aureus* en un alimento se interpreta por lo general, como un indicador de contaminación a partir de la piel, la boca y las fosas nasales de los manipuladores de alimentos, si bien el material y equipos sucios

y las materias primas de origen animal pueden ser asimismo la fuente de contaminación. Para el recuento de *S. aureus* se ha propuesto diversos medios específicos, los cuales difieren principalmente en los agentes selectivos que contienen, entre los que se destacan el telurito de potasio, cloruro de litio, azida sódica, la glicina y la polimixina B. En la actualidad gozan de gran aceptación los medios que contienen yema de huevo junto a uno o más de los agentes selectivos antes mencionados.

Entre los métodos para la detección de *S. aureus* se encuentra la siembra directa en placas de agar Baird Parker, la siembra directa en placas de agar yema de huevo polimixina telurito, la siembra directa en placas de agar KRANEP y la técnica del NMP en telurito manitol glicina. (ICMSF, 2000).

## **CAPITULO III:**

### **METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION**

#### **3.1 Diseño de Investigación**

##### **3.1.1 Experimental**

Porque se analizaron 10 muestras de jarabes medicinales comercializados en los alrededores del mercado de La Parada con la finalidad de cuantificar la cantidad de bacterias mesófilos aerobias viables.

#### **3.2 Tipo de Investigación**

##### **3.2.1 Descriptiva**

Porque se describieron todos los pasos que se efectuaron para determinar la cantidad de bacterias aerobias mesófilos viables en los jarabes medicinales comercializados en los alrededores del mercado de La Parada.

##### **3.2.2 Transversal**

Porque se recolectaron los datos de las muestras durante los meses junio a octubre de 2015 con la finalidad de identificar las bacterias aerobias mesófilos viables.

#### **3.3. Métodos**

##### **3.3.1 Deductivo**

Porque se interpretaron los resultados obtenidos en el ensayo microbiológico de la Norma Técnica AOAC 990.12 y al compararlos con la referencia se determinó su aprobación como producto inocuo.

### 3.3.2 Científico

Dado que se aplicaron todos los pasos para realizar la presente investigación.

## 3.4 Población y Muestreo de la Investigación

### 3.4.1 Población

Jarabes medicinales naturales.

### 3.4.2 Muestra

Muestras de jarabes medicinales naturales adquiridos en la tienda ubicada en la en la Av. Aviación 307 en el Distrito de La Victoria, en el periodo de junio - octubre 2015.

Aplicando los criterios de exclusión e inclusión dispuestos por el investigador se determinó un tamaño de muestra de 10 jarabes de diferente denominación.

- Criterios de inclusión.
  - Almacenamiento adecuado de productos.
  - Productos correctamente etiquetados.
  - Jarabe que se expendan en la tienda ubicada en la Av. Aviación 307 en el Distrito de La Victoria de la ciudad de Lima.
- Criterios de exclusión.
  - Almacenamiento inadecuado de productos.
  - Productos incorrectamente etiquetados.

- Jarabe que se haya expendido en la tienda ubicada en la Av. Aviación 307 en el Distrito de La Victoria de la ciudad de Lima.
- Determinación del tamaño y composición de la muestra.

Considerando que la población del estudio se determinó cuantitativamente, el tamaño de la muestra se establece empleando una fórmula estadística para definición de muestras en poblaciones finitas:

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Donde:

- N = Total de la población
- $Z_{\alpha}$  = 1.96 al cuadrado (si la seguridad es del 95%)
- p = proporción esperada (en este caso 5% = 0.05)
- q = 1 – p (en este caso 1-0.05 = 0.95)
- d = precisión (en su investigación use un 5%).

$$n = \frac{10 * 1.96^2 * 0.05 * 0.95}{0.03^2 * (10 - 1) + 1.96^2 * 0.05 * 0.95}$$

$$n = 10$$

Por lo tanto, el cálculo del tamaño de muestra produjo un total de 10 jarabes medicinales naturales de distinta denominación.

### 3.5 Variables e indicadores

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
Variable independiente (X)		
Aerobios mesófilos viables	Número de unidades formadoras de colonias UFC/g	Aprobado
		No aprobado

### 3.6 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

#### 3.6.1 Técnicas

Medición de número de unidades formadoras de colonias UFC/g en jarabes naturales mediante la técnica descrita en la Norma Técnica AOAC 990.12. el cual posee una confiabilidad y validez del 95%.

#### 3.6.2 Instrumentos

- Stomacher.
- Bolsas para Stomacher estériles.
- Material estéril para contener los volúmenes de diluyente Butterfield's tamponado necesarios para el análisis.
- Pipetas graduadas estériles y/o micropipetas.
- Probeta estéril.
- Tubos de ensayo estériles.
- Balanza.
- Etiquetas (identificación de muestras) o lápiz marcador indeleble.
- Gabinete de Bioseguridad.
- Mechero.

- Vortex o Agitador de Tubos.
- Aplicador Petrifilm.
- Estufa de Incubación a  $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- Contador de colonias o equivalente.

### 3.6.3 Preparación de la muestra

#### ❖ Piel cuello de ave

- Asépticamente pesar a lo menos (manteniendo relación 1:10 con el diluyente)  $10 \pm 0.1$  g de muestra representativa dentro de una bolsa estéril Stomacher.
- Agregar 90 ml de Diluyente Butterfield's Tamponado. Esta dilución es denominada  $10^{-1}$ . No usar tampones que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato con las placas Petrifilm, ya que pueden inhibir el crecimiento.
- Homogenizar la muestra en equipo Stomacher por 1 minuto a velocidad media.
- La siembra en duplicado queda a criterio del laboratorio, para lo cual se debe repetir el procedimiento antes descrito.
- A partir de la dilución anterior tomar 1 ml y depositarlo en un tubo que contenga 9 ml de Diluyente Butterfield's Tamponado. Esta dilución es denominada  $10^{-2}$
- En caso de ser necesario, el laboratorio puede realizar más diluciones sucesivas con el objeto de obtener placas con recuentos contables.

#### 3.6.4 Protocolo de trabajo

- Rotular las placas Petrifilm con la identificación de las muestras y la dilución correspondiente.
- Colocar la placa Petrifilm Recuento de Microorganismos Aerobios Mesófilos en una superficie plana.
- Levantar el film superior e inocular 1 ml de la dilución decimal apropiada en el centro del film inferior.
- Bajar cuidadosamente el film superior encima de la muestra, evitando la formación de burbujas de aire.
- Colocar el aplicador con la cara lisa hacia arriba en el centro de la placa.
- Presionar ligeramente el centro del aplicador para distribuir la muestra uniformemente. Distribuir el inóculo por toda el área de crecimiento del Petrifilm antes de que se forme el gel. No deslizar el aplicador por el film.
- Sacar el aplicador y esperar al menos un minuto para permitir que solidifique el gel.
- Por cada dilución existente siembre en una o dos placas.
- Incubar las placas en posición horizontal, cara arriba, en pilas de hasta 20 placas. La incubadora debe estar humidificada
- Incubar las placas Petrifilm Recuento de Microorganismos Aerobios Mesófilos por  $48 \pm 3$  horas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .



### 3.6.5 Cálculos y expresión de los resultados

- Contabilizar todas las colonias rojas de borde regular, independientemente del tamaño o intensidad en el color.
- El área de crecimiento circular del Petrifilm es aproximadamente de 20 cm<sup>2</sup>. Pueden realizarse estimaciones en placas que contengan más de 300 colonias contando el número de colonias en uno o más cuadrados representativos y obteniendo el promedio. Multiplicar dicho número por 20 para obtener el recuento total por placa.
- Altas concentraciones de colonias en las placas ocasionará que toda el área de crecimiento se vuelva roja o rosada. Ocasionalmente, en placas demasiado cargadas, el centro de la placa puede carecer de colonias visibles, pero pueden apreciarse muchas colonias pequeñas en los bordes. Cuando esto ocurre, diluir más la muestra para obtener un recuento más preciso.
- Algunos organismos pueden licuar el gel, pudiéndose producir una difusión que oculte la presencia de otras colonias. Si la licuación del gel interfiere con el recuento, debe realizarse un recuento estimado contando las áreas no afectadas.
- Tras la incubación, las placas pueden conservarse, para recuentos posteriores, en congelación a temperaturas bajo o igual a los -15°C por un máximo de una semana, para efectuar el conteo. Esto es sólo para casos de emergencia, no se debe establecer como procedimiento rutinario.

### 3.6.6 Informe de los recuentos en placa

- Seleccionar las placas que presenten un rango de conteo entre 30 – 300 colonias.
- Para muestras de piel de cuello, en caso de realizar diluciones en duplicado se deben promediar el N° colonias encontradas en ambas placas de la misma dilución y multiplicar por el inverso de la dilución. En caso de realizar sólo una placa en diluciones consecutivas, registrar el número de colonias de cada dilución, multiplicar por el inverso de la dilución y luego determinar el promedio del recuento bacteriano entre ambas diluciones.
- Los recuentos se informarán con 2 dígitos. Cuando el tercer dígito es 5, agregar una unidad al segundo dígito si éste es impar y mantener el segundo dígito si éste es par. Usar ceros para los demás dígitos hacia la derecha.
- Se informará como UFC/ g.
- En el caso de valores obtenidos sobre o bajo el rango deben ser informados como Recuento Estimado en Placa (RESP).
- En caso de recuentos incontables se informará como Muy Numeroso Para Contar (MNPC).
- En caso de no obtener desarrollo en las placas se debe informar de acuerdo al límite de detección de la técnica.

Ejemplo: < 10 UFC / g. Muestras de piel de cuello de ave en dilución 10-1.

## CAPITULO IV:

### PRESENTACION, ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS.

#### 4.1 Resultados

A continuación, se presentan el detalle de 10 muestras de jarabe que han sido analizadas exponiendo sus resultados de acuerdo al contenido microbiano respectivo.

TABLA N° 1 Presentación de Resultados de Análisis Microbiológico.

	M1	M2	M3	M4	M5
N. aerobios mesófilos	10	$92 \times 10^2$	$70 \times 10^3$	80	20

Fuente: datos obtenidos del trabajo de investigación.

	M6	M7	M8	M9	M10
N. aerobios mesófilos	$24 \times 10^3$	$99 \times 10^3$	$36 \times 10^3$	$80 \times 10^3$	$29 \times 10^3$

Fuente: datos obtenidos del trabajo de investigación.

TABLA N°1: En las 10 muestras analizadas, se puede apreciar que 7 de ellas exceden el límite microbiológico en aerobios mesófilos según la Norma Técnica, las cuales están sombreadas de color rojo, y solo 3 de ellas cumplen con lo dicho en la Norma Técnica. Se indica que el límite microbiano es  $<10^2$  ufc/g.

TABLA N° 2 Presentación de códigos de muestras.

CODIGO	MUESTRA
M1	TONICO VARONIL TRIPLE RSX
M2	RECONSTITUYENTE MACA ORGANICA
M3	SUPER RECONSTITUYENTE MULTIVITAMINICO MEMOREX
M4	EXTRACTO ESPECIAL 100 PLANTAS EXTRA FORTE
M5	VITA HUESOS FORTE
M6	COMPUESTO ESPECIAL RIÑOSAN
M7	HIGASAN
M8	PROSTATA
M9	SANGRE DE TORO
M10	ULTRA VAGINAL

Fuente: datos obtenidos del trabajo de investigación.

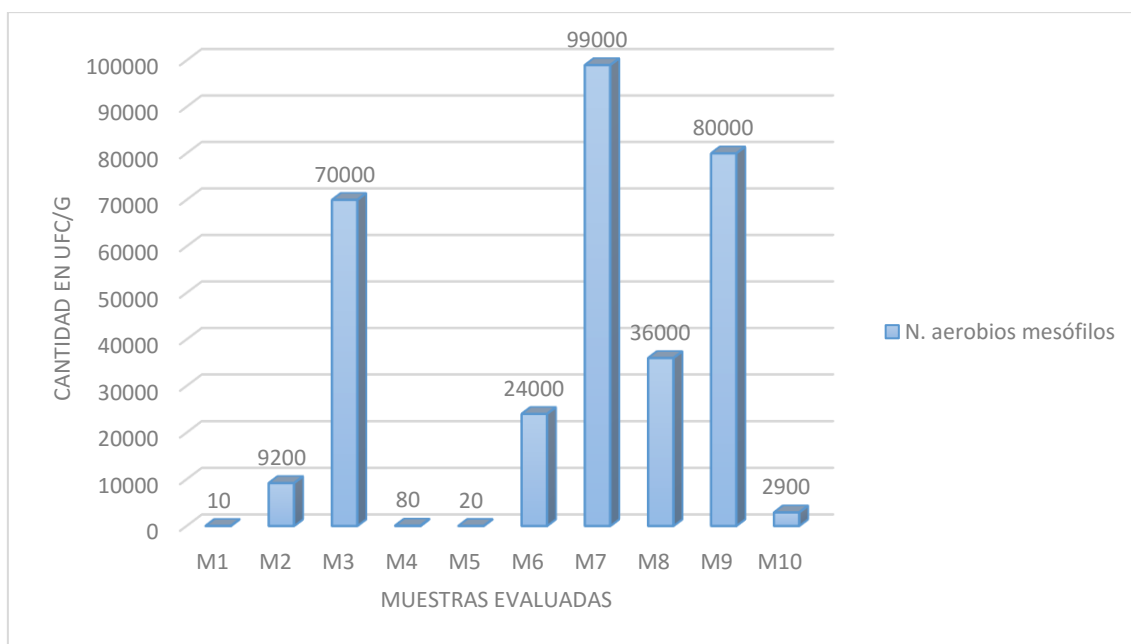
TABLA N° 3 Distribución de contenido bacteriano expresado en ufc/g.

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
N. aerobios mesófilos	10	9200	70000	80	20	24000	99000	36000	80000	2900

Fuente: elaboración propia.

TABLA N°3: La siguiente tabla expresa la cantidad en ufc/g de aerobios mesófilos de cada muestra destacándose la muestra M3, M7 y M9 las cuales oscilan entre los 70000 y 99000 colonias, el cual excede el límite permitido por la Norma Técnica. Se indica que el límite microbiano permitido es  $<10^2$  ufc/g.

Gráfico N° 01: Distribución de contenido de contaminantes según tipo de microorganismo.



Fuente: resultados de la investigación

En el gráfico N° 1 Se muestra la distribución de contaminantes microbianos según tipo de microorganismo. El mayor valor hallado corresponde a Muestra M7 de jarabe de Higasan con 99000 ufc/g o su equivalente  $99 \times 10^3$  ufc/g en relación a su contenido de bacterias aerobios mesófilos viables y el de menor valor a M1 de jarabe Tónico Viril el cual presenta un valor de 10 ufc/g.

Tabla N° 4: Distribución Porcentual de los Resultados de Análisis Microbiológico

Según el Criterio de Aprobación en Aerobios Mesófilos Viables.

RESULTADOS	PORCENTAJE
APROBADOS	30 %
DESAPROBADOS	70%

Fuente: elaboración propia.

Tabla N°4: En los resultados finales se comprobó que un 30% de las muestras pasaron el criterio aprobación y están aptos para su comercialización y consumo público. El 70% restante desaprobaron el criterio de aprobación, por lo cual no son recomendados para el consumo público.

Gráfico N° 2 Distribución Porcentual de Resultados Según Criterio de Aprobación.



Fuente: resultados de la investigación.

En el gráfico N° 2 se observa que el 70% de las muestras analizadas salieron desaprobadas según el límite impuesto por la Norma Sanitaria, lo cual dice que la forma como han sido elaborados estos jarabes medicinales naturales no cumple con los estándares sanitarios requeridos y por ende no son aptos para el consumo humano. En cambio, un 30% de estas muestras salieron aprobadas según la Norma Sanitaria, a pesar que el lugar donde se obtuvieron las muestras no contaban con un adecuado almacenamiento y limpieza.

## DISCUSIÓN

- La investigadora Torres Ramírez, Mousy Lorena describe el análisis microbiológico de materias primas utilizadas en la elaboración de productos naturales en una industria colombiana determinado que los contenidos bacterianos tanto patógenos como no patógenos se encontraba por encima de los límites de referencia. En el presente estudio se reporta que el 70 % de los jarabes analizados se encontró contaminado con bacterias no patógenas aerobias mesófilos viables por encima de los límites que indica la norma sanitaria no siendo apto para el consumo humano.
- Los investigadores Membreño Canales, Enis Marisol; Menjivar Roque, Gilberto Vladimir. Evalúan una propuesta de tres preformulaciones de un jarabe antidiarreico a base de los extractos de hojas secas de *Psidium guajava*. Los autores establecen que luego de los análisis microbiológicos las muestras no están aptas para el consumo humano por la cantidad de contenido bacteriano. En la presente investigación se reportó que solo el 30% de todas las muestras analizadas cumplían con la norma sanitaria.



## CONCLUSIONES

- Como primera conclusión a la que se llega en esta parte de la investigación, es que las muestras analizadas presentan problemas de calidad, según el parámetro aplicado como criterio de aceptación, se evidenció la presencia de bacterias no patógenas aerobias mesófilas viables en el 70% de las muestras analizadas, superando el límite permitido por la Norma Sanitaria Aplicable a Jarabes Destinados al Consumo Humano dispuesta por la DIGESA.
- La presente investigación evaluó muestras de jarabes medicinales de origen natural mediante ensayos microbiológicos según los procedimientos dispuestos por la Norma Técnica AOAC 990.12, dando como resultado que solo tres muestras de las diez analizadas es inferior a 100 UFC/g, lo cual representa el 30% de muestras aprobadas bajo el criterio señalado por la Norma de DIGESA.
- En la investigación se encontró que la cantidad de bacterias no patógenas aerobias mesófilas viables en siete de las diez muestras analizadas fue superior al límite inferior microbiano estipulado en la Norma Sanitaria Aplicable a Jarabes Destinados al Consumo Humano dispuesta por la DIGESA, lo cual representa el 70% de las muestras analizadas que fueron declaradas como no aprobadas. Cabe resaltar que este resultado corresponde a bacterias no patógenas mesófilas viables las mismas que no pueden eliminarse sino tan solo controlar su número bajo límites de inocuidad.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda hacer un análisis seriado para determinar un patrón ya que las muestras tomadas aleatoriamente en el centro comercial recogen el resultado del momento.
- Se sugiere investigar los factores que ocasionan los resultados de desaprobación de las muestras analizadas, si estos están ligados a la manufactura, al traslado y manipulación o a las condiciones de almacenamiento.
- Se recomienda ampliar el número de muestras para hacer más significativos los resultados a pesar de que los resultados evidenciaron ausencia total de microorganismo patógeno.
- Ampliar el análisis microbiológico a la identificación de otros microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, y *Cándida albicans*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Membreño Canales, Enis Marisol; Menjivar Roque, Gilberto Vladimir**  
Propuesta de tres preformulaciones de un jarabe antidiarreico a base de los extractos de hojas secas de *Psidium guajava*, L. (GUAYABO). El Salvador 2009.
2. **Torres Ramírez, Mausy Lorena** “Análisis microbiológico de materias primas utilizadas en la elaboración de productos naturales en una industria colombiana” Colombia. 2006.
3. **Yambay Calderón, Paola Fernanda.** “Elaboración y control de calidad de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago major*) y comprobación de su actividad cicatrizante en heridas inducidas en ratones” Ecuador 2013.
4. **Sueros Ríos, Gaby Beatriz.** “Validación de un método de ensayo cuali-cuantitativo para el análisis microbiológico del jarabe Tyrex a nivel intralaboratorial”. Perú 2013.
5. NORMA SANITARIA APLICABLE A LOS AZUCARES Y JARABES DESTINADOS AL CONSUMO HUMANO, (PREPUBLICADA MEDIANTE RMN° 684-2005/MINSA). Perú 2005.
6. Determinación recuento aerobios mesófilos técnica Petrifilm. Chile 2011.  
<http://www.idal.cl/sgcidal/index.php/laboratorio/jefe-laboratorio-control-de-calidad/112-procedimientos/169-determinacion-recuento-aerobios.html>.

- 7. Cruz Garay Jorge Fernando, Cuéllar Galdámez Leónidas Alexander.**  
“Formulación de un jarabe y caramelos de uso laxante a base de los extractos etanólicos de la pulpa de los frutos de *tamarindus indica* (*tamarindo*) y *cassia fistula*(*caña fistula*). El Salvador 2004.
- 8. López Sánchez Liliana Guadalupe,** "Elaboración, control de calidad y evaluación de la actividad antidiabética de la miel de agave (*Agave americana L.*)". Ecuador 2013.
- 9. Bucay Morocho Luis Carlos,** “Estudio farmacognóstico y actividad antimicrobiana de la violetilla (*Hybanthus parviflorus*)”. Ecuador 2009.
- 10. Pozo Esparza, Gladys María,** “Uso de las plantas medicinales en la comunidad del Cantón Yacuambi durante el periodo Julio-Diciembre 2011”. Ecuador 2014.
- 11. Aragadvay Yungán Sandra Piedad,** “Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante y antiinflamatorio a base de chilca (*Baccharis latifolia*) y hierbamora (*Solanum nigrum*)”. Ecuador 2009.
- 12. Chuy Donis Julia Lisseth,** “Terapias complementarias y medicina de herbolaria aplicables a los padecimientos que con mayor frecuencia se presentan en el centro de salud de el tejear, municipio del departamento de Chimaltenango”. Guatemala 2008.

**13. Alonso Nore Lina Ximena, Poveda Sánchez Jeimy Alexandra**, “Estudio comparativo en técnicas de recuento rápido en el mercado y placas Petrifilm 3M para el análisis de alimentos”. Colombia 2008.

**14. CERTILAB**, Informe de Ensayo N° N1750 “Reconstituyentes- Tónicos”. Perú 2015.

**15. Instructivo Técnico para recuento de Microorganismos Aerobios Mesófilos mediante Técnica de Petrifilm® AOAC Official Method 990.12.**

<http://historico.sag.gob.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP1TkTXdhRJAS2Wp3v88hOirlqGe4SV1&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivoid=1699>

**ANEXOS**

**Matriz de Consistencia**

**TITULO: “DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE JARABES MEDICINALES NATURALES”**

**PRESENTADO POR: CALIXTO CONTRERAS, PERCY RICHARD**


PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	MÉTODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACIÓN Y MUESTRA
<p><b>PROBLEMA PRINCIPAL</b></p> <p>¿Existiría una cantidad de bacterias aerobias mesófilos viables en jarabes medicinales en base a plantas naturales por encima del límite permisible descrito en la Norma Técnica AOAC 990?12, expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado de La Parada en la ciudad de Lima, en el periodo de junio a octubre de 2015?</p>	<p><b>OBJETIVO GENERAL</b></p> <p>Determinar si la cantidad de bacterias aerobias mesófilos viables están por encima de los valores permitidos en jarabes medicinales en base a plantas naturales expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado de La Parada en la ciudad de Lima, en el periodo de junio a octubre de 2015.</p> <p><b>OBJETIVOS ESPECÍFICO</b></p> <p>OE1. Determinar mediante ensayos microbiológicos la cantidad de UFC/g de bacterias aerobias mesófilos viables en jarabes medicinales en base a plantas naturales, expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado La Parada.</p> <p>OE2. Comparar los resultados obtenidos en la evaluación microbiológica sobre la cantidad de UFC/g de bacterias aerobias mesófilos viables en jarabes medicinales en base a plantas naturales, expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado de La Parada con las especificaciones descritas en la Norma Sanitaria Aplicable a Jarabes Destinados al Consumo Humano dispuesta por la DIGESA.</p>	<p><b>HIPÓTESIS GENERAL</b></p> <p>La cantidad de bacterias aerobios mesófilos viables encontradas en jarabes medicinales en base a plantas naturales superarían los límites permitidos descrita por la Norma Sanitaria Aplicable a Jarabes destinados al Consumo Humano dispuesta por la DIGESA.</p> <p><b>HIPÓTESIS ESPECÍFICA</b></p> <p>HE1. Existiría presencia de bacterias aerobias mesófilos viables en jarabes medicinales, en base a plantas naturales, expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado La Parada, en cantidad no apropiada para el consumo humano.</p> <p>HE2. Los resultados obtenidos en la evaluación microbiológica sobre la cantidad de UFC/g de bacterias aerobias mesófilos viables en jarabes medicinales, en base a plantas naturales, expendidos en las tiendas naturistas alrededor del mercado de La Parada se encontrarían por encima de lo indicado en la Norma Sanitaria Aplicable a Jarabes destinados al Consumo Humano dispuesta por la DIGESA.</p>	<p><b>TIPO DE INVESTIGACIÓN</b></p> <p><b>Descriptiva:</b> Porque se describieron todos los pasos que se efectuaron para determinar la cantidad de bacterias aerobias mesófilos viables en los jarabes medicinales comercializados en los alrededores del mercado de La Parada.</p> <p><b>Transversal:</b> Porque se recolectaron los datos de las muestras durante los meses junio a octubre de 2015 con la finalidad de identificar las bacterias aerobias mesófilos viables.</p>	<p><b>MÉTODO DE INVESTIGACIÓN</b></p> <p><b>Deductivo:</b> Porque se interpretaron los resultados obtenidos en el ensayo microbiológico de la Norma Técnica AOAC 990.12 y al compararlos con la referencia se determinó su aprobación como producto inocuo.</p> <p><b>Científico:</b> Dado que se aplicaron todos los pasos para realizar la presente investigación.</p>	<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b></p> <p>Aerobios mesófilos viables</p> <p><b>INDICADORES</b></p> <p>-presencia de Aerobios mesófilos viables</p>	<p><b>POBLACIÓN</b></p> <p>Jarabes medicinales naturales.</p> <p><b>MUESTRA</b></p> <p>10 jarabes</p>

## ANEXOS

### GLOSARIO

1. **Agua peptonada:** Medio usado como diluyente y para enriquecimiento bacteriano a partir de alimentos y otros materiales de interés sanitario.
2. **Flagelos:** es una estructura filamentosa que sirve para impulsar la célula bacteriana.
3. **Contaminación microbiana:** Es La presencia de microorganismos en los productos cosméticos puede producir cambios en el aspecto físico, color, olor y textura.
4. **Atóxicos:** que no tiene toxicidad. No venenoso.
5. **Biocinética:** Parte de la biología que estudia los cambios causados en el movimiento y las fuerzas necesarias para producir esos cambios.
6. **Saprophytos:** organismos que viven sobre materia orgánica en descomposición y se alimenta de ella.
7. **Micotoxinas:** son metabolitos secundarios tóxicos, de composición variada, producidos por organismos del reino fungi, que incluye setas, mohos y levaduras.
8. **Aspergilosis:** es una infección o respuesta alérgica debida al hongo *Aspergillus*.

GRAFICO Nº 3 Informe de ensayo de Reconstituyentes – Tónicos  
proporcionado por Certificadora y Laboratorios Alas Peruanas S.A.C.



## INFORME DE ENSAYO Nº N1750 - 2015

**Solicitante:** CALIXTO CONTRERAS PERCY RICHARD  
**Dirección:** Francisco Bejarano 144 San Juan de Miraflores  
**Solicitud de Ensayo Nº:** 1067-2015/N  
**Nombre del Producto:** RECONSTITUYENTES - TÓNICOS  
**Características de la muestra:** (proporcionado por el solicitante)  
*M1: TONICO VARONIL TRIPLE RSX; F. DE VENC.: DIC. 2017*  
*M2: RECONSTITUYENTE MACA ORGANICA; F. DE VENC.: DIC. 2017*  
*M3: SUPER RECONSTITUYENTE MULTIVITAMINICO MEMOREX; F. DE VENC.: DIC. 2017*  
*M4: EXTRCTO ESPECIAL 100 PLANTAS - EXTRAFUERTE; F. DE VENC.: DIC. 2017*  
*M5: VITA HUESOS FORTE; F. DE VENC.: DIC. 2017*  
*M6: COMPUESTO ESPECIAL RIÑOSAN; F. DE VENC.: DIC. 2017*  
*M7: HIGASAN; F. DE VENC.: DIC. 2017*  
*M8: PROSTATA; F. DE VENC.: DIC. 2017*  
*M9: SANGRE DE TORO; F. DE VENC.: DIC. 2017*  
*M10: ULTRA VAGINAL; F. DE VENC.: DIC. 2017*

**Cantidad recibida:** 500 mL. aprox. de cada muestra  
**Presentación:** Envasado en 01 frasco color ámbar debidamente sellado y rotulado, por cada muestra.  
**Fecha de recepción:** 08 de julio de 2015  
**Fecha de ejecución de ensayos:** Del 08 al 13 de julio de 2015

---

**ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS**

Nº	Ensayo	Resultado					Unidades
		M1	M2	M3	M4	M5	
01	N. Aerobios mesófilos	10	92x10 <sup>2</sup>	70x10 <sup>3</sup>	80	20	UFC/g
02	N. Mohos	<10	<10	<10	<10	<10	UFC/g
03	N. Levaduras	<10	37x10 <sup>2</sup>	84x10 <sup>3</sup>	<10	<10	UFC/g


**ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS**


Nº	Ensayo	Resultado					Unidades
		M6	M7	M8	M9	M10	
01	N. Aerobios mesófilos	24x10 <sup>3</sup>	99x10 <sup>3</sup>	36x10 <sup>3</sup>	80x10 <sup>3</sup>	29x10 <sup>2</sup>	UFC/g
02	N. Mohos	<10	<10	<10	<10	<10	UFC/g
03	N. Levaduras	20x10 <sup>4</sup>	40x10 <sup>4</sup>	54x10 <sup>2</sup>	11x10 <sup>4</sup>	21x10 <sup>2</sup>	UFC/g

**Métodos de ensayo utilizados:**  
01. AOAC 990.12 19Th Edition 17.2.07: 2012 Aerobic Plate Count in Foods.  
02. AOAC 997.02 19Th Edition. 17.2.09: 2012 Yeast and Mold Counts in Foods.  
03. AOAC 997.02 19Th Edition. 17.2.09: 2012 Yeast and Mold Counts in Foods.

- Los resultados del presente Informe de Ensayo se relaciona únicamente a las muestras analizadas. No es un certificado de conformidad, certificado del sistema de calidad de quien produce la muestra.
- El muestreo, las condiciones de muestreo y transporte de la muestra hasta su ingreso a CERTILAB es responsabilidad del solicitante.
- Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INDECOPI-SNA.
- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente Informe sin la autorización de CERTILAB.
- El presente Informe tiene una vigencia de 01 año después de la fecha de emisión.

**San Miguel, 14 de julio de 2015**



  
**Biol. Sara León Marín**  
**Laboratorio de Microbiología**  
**C.B.P. 8889**

Informe de Ensayo Nº N1750-2015 Pág. 1 de 1

**CERTIFICADORA Y LABORATORIOS ALAS PERUANAS S.A.C.**  
Av. La Paz 1598, San Miguel, Lima - PERÚ  
Teléfono: (511) 578-4986 - 578-4970 - 578-5062 Telefax: 578-4542 E-mail: certifab@certilabperu.com