



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
UNAN-LEON
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
ESCUELA DE FARMACIA**



**SEGUIMIENTO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS
DIFERENTES TIPOS DE TE COMERCIALIZADOS EN
SUPERMERCADOS DE LEÓN 2005.**

**TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIADO
QUIMICO FARMACEUTICO.**

AUTORAS

**BR. JOHANNA MARIA ALVARADO CÁRCAMO.
BR. DIANA ELIZABETH DOMÍNGUEZ OSEJO.
BR. WENDY MARIA ESPINOZA DELGADO.**

TUTOR

LIC. KELVIN NÚÑEZ.

LEÓN –NICARAGUA 2005



Según la leyenda, en el año 2737 A.C., Sheng Nung, emperador de China, estaba descansando junto a un árbol de té silvestre cuando una ligera brisa agitó las ramas y algunas hojas cayeron en un recipiente donde hervía agua. El gusto y el aroma de aquel brebaje encantaron al emperador que lo adoptó como bebida; la novedosa infusión se esparció rápidamente por todo el imperio posteriormente hacia todo el mundo

INDICE



CONTENIDO	PAG.
DEDICATORIA	1-3
AGRADECIMIENTO	4
RESUMEN	5
INTRODUCCION	6-7
OBJETIVO	8
MARCO TEORICO	9-32
HIPOTESIS	33
MATERIAL Y METODO	34-44
RESULTADOS	45-55
ANALISIS DE LOS RESULTADOS	56
CONCLUSION	57
RECOMENDACIONES	58
BIBLIOGRAFIA	59
ANEXOS	67

DEDICATORIA



A DIOS:

Que es el creador de nuestra vida, que me ilumina y me guía enfrentando cada día los problemas que se me presentan.

A MIS PADRES:

Ramiro Rodolfo Alvarado Delgado y Paula Francisca Cárcamo Loáisiga, que con gran amor me han dado su apoyo, paciencia y confianza incondicional para poder alcanzar siempre mis metas y brindarme un futuro mejor.

A MIS HERMANOS:

Carolina, Jahaslam, Jonathan, Ruth y Rodolfo Alvarado Cárcamo por ser la inspiración para realizar esta obra.

A TODOS:

Los seres queridos y aquellas personas que me apoyaron en los momentos más difíciles para la realización de este trabajo.

Johanna Maria Alvarado Cárcamo.

DEDICATORIA



A DIOS:

Nuestro padre que siempre nos guía para seguir el camino de la vida.

A MIS PADRES:

Marcos Alberto Domínguez Zapata y Elizabeth Osejo Sacasa, por el apoyo, cariño y paciencia que han demostrado para mi formación profesional.

A MIS HERMANOS:

Lilliam, Augusto y Marcos Domínguez Osejo por todo el cariño que me han brindado.

Diana Elizabeth Domínguez Osejo.

DEDICATORIA



A DIOS:

Que me ilumino el camino hacia la sabiduría y por todas las cosas que me permitió realizar.

A MIS PADRES:

Domingo E. Espinoza Andrade y Maria Ernestina Delgado Cruz. A quienes amo y me han brindado todo su apoyo cariño y esfuerzo para alcanzar la meta propuesta.

A MIS HERMANOS:

Alexander Domingo, Walter Alberto e Irving José Espinoza Delgado por todo el apoyo y el cariño que me brindaron.

A MI TIA:

Licenciada Maria Benita Alarcón por brindarme su apoyo en este trabajo.
A mis Abuelitos, amigas y primos.

Wendy Maria Espinoza Delgado.

AGRADECIMIENTO



A nuestro tutor:

Lic. Kelvin José Núñez.

Por ser más que un maestro.

Por depositar la confianza en sus alumnas.

Por ser una persona entregada al trabajo.

RESUMEN



El presente estudio plantea la necesidad de determinar un seguimiento de la calidad microbiológica de los diferentes tipos de té que se comercializan en los supermercados y distribuidoras de la ciudad de León (UNION, SALMAN, PALI, AHORRO), los cuales pueden poseer una flora saprofita, presencia de microorganismos patógenos en evidencia a través del control microbiológico.

Para la realización de este estudio se utilizaron 75 productos, donde la muestra la constituyeron 6 de estos, de lo cual 3 son de carácter alimenticio y 3 fitofarmacéuticos, donde obtuvimos resultados satisfactorios.

Los métodos utilizados fueron, método en placa, el NMP, determinación de hongos y levaduras finalizando con tinción de gram como prueba confirmatoria, apoyados en la farmacopea alemana para productos terminados.

El estudio que se realizó fue de tipo experimental y descriptivo.

INTRODUCCION

Las bolsitas de té son un invento de Thomas Sullivan (1940). Este modo de comercialización representa, según la publicación de LMC International Ltd, Oxford, UK "Trade Opportunities in the World Beverages Sector", 86,2% del mercado total. El



té es comercializado en forma de bolsitas principalmente en Occidente, mientras que en Oriente se prefieren las hojas enteras.

El té es la bebida que más se toma en el mundo después del agua, a un ritmo de 15,000 tazas por segundo. Cuando se piensa en el té, el primer sector de utilización que viene a la mente es el sector agroalimentario. Sin embargo, el té se ha abierto recientemente a nuevos mercados, principalmente en el área de las industrias farmacéutica y cosmética.

Todas las personas tienen derecho a esperar que los alimentos que comen sean inocuos y aptos para el consumo. Las enfermedades de transmisión alimentaria y los daños provocados por los alimentos son, en el mejor de los casos, desagradables, y en el peor pueden ser fatales. Los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos pueden perjudicar al comercio y al turismo y provocar pérdidas de ingresos. El deterioro de los alimentos ocasiona pérdidas, es costoso y puede influir negativamente en el comercio y en la confianza de los consumidores. Por consiguiente, es imprescindible un control eficaz de la higiene, a fin de evitar las consecuencias perjudiciales que derivan de las enfermedades y los daños provocados por los alimentos y por el deterioro de los mismos, para la salud y la economía. Todos, agricultores y cultivadores, fabricantes y elaboradores, manipuladores y consumidores de alimentos, tienen la responsabilidad de asegurarse de que los alimentos sean inocuos y aptos para el consumo.

La industria agroalimentaria es el mercado tradicional del té. Sea consumido frío, caliente, en bolsitas o a granel, este tipo de consumo representa la mayor parte de las ventas de té en el mundo (Anexo 1)

El té es una bebida placentera, popular, económica, segura y socialmente aceptada, consumida todos los días por millones de personas de todo el mundo. Es una rica fuente de antioxidantes llamados flavonoides, y contiene muchos otros componentes beneficiosos tales como vitaminas. Hay creciente evidencia de que el



consumo moderado de té podría tener un efecto protector sobre algunas formas de cáncer, y enfermedades cardiovasculares entre otros.

De ahí la importancia de su evaluación microbiológica que garanticen las buenas prácticas de manufactura de los productos de origen vegetal. En Nicaragua actualmente se comercializan diferentes tipos de té, único y asociados, de laboratorios nacionales y extranjeros, por lo que es necesario garantizar la calidad de estos productos.

En el año 1995 se realizó un estudio de los diferentes tipos de té comercializados en los supermercados de la ciudad de León, donde se encontró la presencia de microorganismos identificados que corresponden en su totalidad a bacilos Gram negativos. Encontrándose 54% de **Salmonella** y **Shigella**, 33% **Enterobacter**, 8% **Citrobacter**, 4% **Serratia**.

Es por este motivo que el presente trabajo realizará una evaluación cuantitativa en los diferentes tipos de té ayudando en gran medida a mejorar la calidad de estos por parte de sus fabricantes y su comercialización, y el cuidado y vigilancia de los mismos por las instituciones reguladoras pertinentes.

Es por eso que el presente trabajo de investigación tiene como propósito conocer la calidad microbiológica de los diferentes tipos de té que se consumen lo cual permitirá al usuario conocer el uso seguro y eficaz de los medicamentos y preparados a base de hierbas.

OBJETIVOS



GENERAL:

Evaluar la calidad microbiológica de los té comercializados en supermercados de la ciudad de León.

ESPECIFICOS:

- Evaluar cuantitativamente la calidad microbiológica de los diferentes tipos de té comercializados en los supermercados de la ciudad de León.

- Identificar los principales microorganismos presentes en los diferentes té analizados.

MARCO TEÓRICO

Principios para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos para los alimentos.

Estos principios se han establecido con miras a ofrecer una directriz sobre el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos a los alimentos en cualquier punto de la cadena alimentaria desde la producción primaria hasta el consumo final.



La inocuidad de los alimentos se asegura principalmente mediante el control en el punto de origen, el control de la planificación y formulación del producto y la aplicación de buenas prácticas de higiene durante la producción, la elaboración (incluido el etiquetado), la manipulación, la distribución, el almacenamiento, la venta, la preparación y el uso, junto con la aplicación del Sistema de HACCP. Este enfoque preventivo ofrece un control mayor del que se obtiene con los ensayos microbiológicos, habida cuenta de que la eficacia del ensayo microbiológico para evaluar la inocuidad de los alimentos es limitada.

Los criterios microbiológicos deben establecerse de conformidad con estos principios y basarse en análisis y asesoramiento científicos y, cuando se disponga de datos suficientes, en un análisis de riesgos adecuado para el producto alimenticio y su uso. Además, tienen que elaborarse de forma transparente, cumpliendo con los requisitos necesarios para un comercio equitativo, y revisarse periódicamente para comprobar su utilidad frente a nuevos gérmenes patógenos, tecnología en evolución y nuevos conocimientos científicos.

Definición de criterio microbiológico

El criterio microbiológico para un alimento define la aceptabilidad de un producto, un lote de un alimento basada en la ausencia o presencia, en la cantidad de microorganismos incluidos parásitos, y en la cantidad de sus toxinas / metabolitos, por unidad o unidades de masa, volumen, superficie o lote.

Fines y aplicación de los criterios microbiológicos para los alimentos

Los criterios microbiológicos pueden utilizarse para formular requisitos de diseño y para indicar, según proceda, el estado microbiológico requerido de las materias primas, los ingredientes y los productos terminados en cualquier fase de la cadena alimentaría.



Los criterios pueden resultar importantes para examinar los alimentos, en caso de que las materias primas y los ingredientes sean de origen desconocido o poco seguro, o bien cuando no se disponga de otros medios para comprobar la eficacia de los sistemas basados en el sistema de HACCP y de las buenas prácticas de higiene.

Por lo general, los criterios microbiológicos pueden ser aplicados por los organismos de reglamentación y los empresarios del sector alimentario para definir la distinción entre la aceptabilidad y la inaceptabilidad de materias primas, ingredientes, productos, lotes. Los criterios microbiológicos también pueden utilizarse para determinar si los procesos se ajustan a los Principios Generales de Higiene de los Alimentos.

Aplicación por parte de los organismos de reglamentación

Los criterios microbiológicos pueden utilizarse para definir y comprobar que se cumpla con los requisitos microbiológicos.

Los criterios microbiológicos obligatorios deberán aplicarse a los productos y/o puntos de la cadena alimentaria para los cuales no se disponga de ningún instrumento más eficaz, y a los casos en que se prevea que estos instrumentos pueden aumentar el nivel de protección que se le ofrece al consumidor. Cuando se consideren apropiados, deberán ajustarse a las condiciones específicas del producto

y aplicarse sólo al punto de la cadena alimentaria especificado en el reglamento.

En las situaciones en las que no se cumpla con los criterios microbiológicos, según la evaluación del riesgo a que esté expuesto el consumidor, el punto de la cadena alimentaria y el tipo de producto especificado, es posible que las medidas de control reglamentarias que haya que tomar consistan en seleccionar, reelaborar, rechazar o destruir el producto y/o hacer una nueva investigación para determinar las medidas que han de adoptarse.



Consideraciones generales sobre los principios para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos

Deberá establecerse y aplicarse un criterio microbiológico sólo cuando haya una necesidad concreta y cuando su aplicación resulte práctica. Esa necesidad se demostrará, por ejemplo, a través de datos epidemiológicos que indiquen que el alimento examinado puede representar un peligro para la salud humana, y que un criterio resulta significativo para la protección del consumidor, o como resultado de una evaluación de riesgos.

El criterio debe poder conseguirse técnicamente aplicando buenas prácticas de fabricación (códigos de prácticas). Para lograr las finalidades de un criterio microbiológico, es preciso tener en cuenta:

1. Las pruebas de los peligros reales o posibles a que está expuesto el consumidor; el estado microbiológico de la materia o las materias primas; el efecto de la elaboración sobre el estado microbiológico del alimento;

la probabilidad y consecuencias de una contaminación microbiana y/o de su aumento en las operaciones sucesivas de manipulación, almacenamiento y uso; las categorías de consumidores interesados la relación costos/beneficios asociada a la aplicación del criterio; y el uso previsto del alimento.

2. El número y la magnitud de unidades analíticas examinadas por cada lote sometido a ensayo deberán corresponder a lo establecido en el plan de muestreo y no deberán modificarse. Sin embargo, el lote no deberá someterse a repetidos análisis con el fin de lograr su conformidad.

Aspectos microbiológicos de los criterios Microorganismos, parásitos y sus toxinas / metabolitos que reviven importancia en un determinado alimento

A los efectos del presente documento se incluyen los siguientes: bacterias, virus, levaduras, mohos y algas protozoos, helmintos parásitos; toxinas / metabolitos.



Los microorganismos incluidos en un criterio deberán considerarse en general importante como patógeno, organismos indicadores o bien organismos de deterioro para el alimento y la tecnología en cuestión. No deberán incluirse en el criterio los organismos cuya importancia en un alimento especificado sea dudosa.

El mero descubrimiento, mediante una prueba de presencia-ausencia, de determinados organismos de los que se sabe que provocan enfermedades transmitidas por los alimentos (por ejemplo, ***Clostridium perfringens***, ***Staphylococcus aureus*** y ***Vibrio parahaemolyticus***) no constituye necesariamente una indicación de una amenaza para la salud pública.

En caso de que los gérmenes patógenos puedan detectarse de manera directa y segura, deberá examinarse la posibilidad de realizar ensayos para detectar los gérmenes en lugar de realizar ensayos para detectar los organismos indicadores.

Si se aplica un ensayo para un indicador, deberá declararse expresamente si el ensayo se utiliza para señalar prácticas de higiene poco satisfactorias o bien un peligro para la salud.

Método microbiológico

En la medida de lo posible, deberán aplicarse solamente métodos cuya fiabilidad (precisión, reproducibilidad, variación entre laboratorios y dentro de ellos) se haya establecido estadísticamente sobre la base de estudios comparativos o realizados en colaboración entre varios laboratorios.

Además, deberá darse preferencia a los métodos que se hayan validado para el producto en cuestión, preferentemente con relación a los métodos de referencia elaborados por organismos internacionales. Si bien los métodos deberán ser lo más sensibles y reproducibles posible para que puedan obtenerse los efectos que se persiguen, los métodos que han de utilizarse para llevar a cabo ensayos en las



fábricas, a menudo la sensibilidad y reproducibilidad podrán sacrificarse hasta cierta medida en aras de la rapidez y la sencillez. No obstante, deberá haberse demostrado que dichos métodos dan una evaluación suficientemente fiable de la información que se requiere.

Los métodos que se aplican para determinar la idoneidad para el consumo de alimentos altamente perecederos, o de alimentos con una breve duración en almacén, deberán elegirse, en lo posible, de tal forma que los resultados de los exámenes microbiológicos puedan obtenerse antes de que los alimentos se consuman o lleguen a superar su duración en almacén. Los métodos microbiológicos especificados deberán ser razonables en lo que atañe a la complejidad, disponibilidad de medios, equipo, etc., facilidad de interpretación, tiempo requerido y costos.

Límite microbiológico

Los límites que se establezcan en los criterios deberán basarse en datos microbiológicos apropiados para el alimento y ser aplicables a una gama de productos análogos. Por lo tanto, tendrán que basarse en datos recopilados en distintos establecimientos de producción que trabajan conforme a las buenas prácticas de higiene y aplican el sistema de HACCP. Al establecer límites microbiológicos, hay que tener presente todo cambio que pueda ocurrir en la microflora durante el almacenamiento y la distribución (por ejemplo, disminución o aumento de la cantidad). Los límites microbiológicos se establecerán teniendo en cuenta los riesgos relacionados con los microorganismos, así como las condiciones en las que se prevé que el alimento será manipulado y consumido. Los límites microbiológicos deberán tener en cuenta también la probabilidad de que se registre



una distribución desigual de microorganismos en el alimento, así como la variabilidad propia del procedimiento analítico.

Si el criterio requiere la ausencia de un determinado microorganismo, deberán indicarse el tamaño y número de la unidad analítica (así como el número de unidades de la muestra analítica).

Planes de muestreo, métodos y manipulación

Todo plan de muestreo incluye un procedimiento de muestreo y los criterios decisorios que han de aplicarse al lote, basándose en el examen del número prescrito de unidades de la muestra y de las unidades analíticas subsiguientes del tamaño indicado en los métodos determinados. Un plan de muestreo adecuadamente diseñado define la probabilidad de detección de microorganismos en un lote, pero debe tenerse presente que ningún plan de muestreo puede asegurar la ausencia de un determinado organismo.

Los planes de muestreo deberán ser administrativa y económicamente factibles. En particular, la selección de planes de muestreo deberá tener en cuenta:

- Los riesgos para la salud pública asociados con el peligro.
- La susceptibilidad del grupo de consumidores destinatario.
- La heterogeneidad de distribución de los microorganismos cuando se utilizan planes de muestreo con variables.
- El nivel de calidad aceptable y la probabilidad estadística deseada de que se acepte un lote que no cumple con los requisitos.

Presentación de informes



El informe sobre los ensayos deberá contener la información necesaria para una identificación completa de la muestra, el plan de muestreo, el método de ensayo, los resultados y, de ser apropiado, una interpretación de la misma.

Análisis microbiológico de algunas infusiones de hierbas medicinales. Sobre la desinfección de las drogas vegetales.

Un análisis del incremento de la demanda mundial de drogas vegetales permite comprender los problemas de contaminación de las mismas y consecuentemente el aumento de las pérdidas de material vegetal, por lo que en la estrategia para resolver dicha problemática se debe trabajar orientado hacia la obtención de fitofármacos con calidad terapéutica y entre las soluciones propuestas tener presente su desinfección mediante métodos aprobados por la OMS.

La desinfección de las drogas vegetales surge por tanto como una necesidad de proveer insumos microbiológicamente seguros para su comercialización y empleo por la población y constituye dentro de las diferentes etapas que comprende la poscosecha una labor determinante, por lo que se debe poner atención a su correcta ejecución.

Los estudios han demostrado que el material vegetal recolectado en el campo ya sea silvestre o cultivado presenta alta contaminación proveniente del medio donde las plantas crecen (suelo, agua del regadío, etc.) y han revelado que un gran porcentaje de microorganismos lo constituyen bacterias mesófilas aerobias formadoras de esporas capaces de sobrevivir al proceso de secado aplicado; entre estas bacterias se destacan la ***Pseudomona aeruginosa***, ***Staphylococcus aureus***, ***Escherichia coli*** y ***Salmonella sp.***

La desinfección puede llevarse a cabo mediante métodos químicos y físicos, en la química se utiliza el tratamiento con sales clorinadas como el hipoclorito de sodio o de calcio a diferentes concentraciones y tiempo de inmersión hasta la



disminución de la contaminación a los niveles permisibles; se prefiere la sal de sodio por ser de más fácil dilución.

Previa a la desinfección se precisa el lavado del material vegetal con agua potable para eliminar impurezas, el mismo se hace por circulación continua y posteriormente por inmersión en un tanque, a continuación se sumerge en otro tanque que contiene la solución desinfectante cuya concentración y tiempo de inmersión dependerá de las características del material, vegetal. En aquellas especies que por su composición resulte un medio favorable de contaminación, pero no admiten el tipo de tratamiento anterior como sucede con las flores, por ejemplo de la manzanilla (*Matricaria recutita*), de la caléndula (*Caléndula officinalis*), de la majagua (*Hibiscus elatus*), entre otras; como nueva alternativa de descontaminación está la desinfección física mediante el empleo de radiaciones ionizantes, para ello se utiliza como fuente de energía Cobalto-60 que emite radiaciones gamma. Dicha tecnología tiene la ventaja de ser inocua pues no transforma el material en radioactivo, tampoco le transfiere calor, por lo que resulta de gran interés en el caso de las drogas termo-sensibles. El método consiste en la colocación de la droga seca dentro de una cámara que pasa a través de un campo de radiación.

El análisis de los trabajos existentes en la bibliografía mundial en el campo de las plantas medicinales hace referencias a que el empleo de dosis media, entre 1-10 Kg de radiaciones ionizantes resulta efectivo para disminuir o eliminar los microorganismos saprofitos y patógenos no esporulados y que con la misma no se produce variación en la composición química.

A partir de esta premisa y en razón de los actuales requerimientos mundiales sobre las drogas vegetales se debe hacer énfasis en la importancia de su desinfección como procedimiento que permite producir fitofármacos con la calidad higiénico-sanitaria requerida.



Acerca de la bacteriología de las plantas medicinales fuente de contaminación de las plantas

1. Contaminación a partir del suelo.

El suelo es la fuente de contaminación que contiene mayor variedad de microorganismos, no solo contiene el suelo numerosas clases de microorganismos, sino que están en gran cantidad, siempre en condiciones de contaminar la superficie de las plantas que ahí crecen y a los animales que ahí se mueven.

El polvo del suelo es arrastrado por las corrientes por las corrientes de aire y las aguas pueden transportar partículas de tierra que son capaces de llegar a los alimentos.

2. Contaminación a partir del agua.

Las aguas naturales no solo contienen su flora microbiana habitual, sino microorganismos del suelo y posiblemente de los animales. Las bacterias que se encuentran en las aguas naturales pertenecen principalmente a los siguientes géneros: ***Pseudomonas, Proteus, Streptococos, Enterococos, Aerobacter y Escherichia coli.***

3. Contaminación durante se manipulación e industrialización.

La contaminación del origen natural pueden tener lugar antes que la planta sea obtenida, puede originarse durante la manipulación adicional procedente del equipo empleado, los materiales empaquetados y el personal.

El fabricante intenta limpiar e higienizar el equipo para reducir dicha contaminación empleando además materiales de empaquetado que la haya mínima, aunque se intente esterilizar el equipo, esto es liberarlo por completo de organismos vivos.



Microbiología de los te

Microbiológicamente este producto es un buen medio de cultivo para numerosos gérmenes. Por lo tanto, es un producto susceptible para sufrir alteraciones con facilidad ya que se encuentran una amplia gama de microorganismos que se pueden desarrollar.

Los métodos más utilizados para el aislamiento y recuento de gérmenes patógenos son menos eficaces cuando estos se encuentran en pequeños números en las plantas y sobre todo cuando abundan otros microorganismos. Aun cuando se cuentan con métodos sencillos, muchas veces el costo y el tiempo necesarios son prohibidos. Los grupos de gérmenes a especie que se utilizan se denominan “organismos indicadores” que son de una gran utilidad tanto para determinar la calidad bacteriológica como la garantía que ofrecen al consumidor.

Microorganismos de importancia en la microbiología de las plantas.

Los microorganismos se pueden dividir en:

- Indicadores
- Patógenos
- Putrefactivos

Los microorganismos indicadores son los siguientes: ***Escherichia coli*** tipo 1 y los ***Streptococos coliformes***. Se supone que revelan un manejo no higiénico en las plantas, como la posible presencia de grandes patógenos.

Los microorganismos patógenos son los que producen infecciones, intoxicaciones trasmisibles por las plantas como por ejemplo: las especies del género de las ***Salmonellas, Clostridium y Estafilococos aureus***.



Los microorganismos que producen la descomposición de las plantas figuran las bacterias, levaduras, mohos que originan cambios perjudiciales en el aspecto de olor, gusto o aroma de las plantas.

Organismos indicadores

Los organismos indicadores son grupos o especies de bacterias presentes en las plantas, cuando sobrepasa ciertos límites numéricos es considerada como una indicación que existe la posibilidad que se introduzcan organismos peligrosos o de que proliferen especies patógenas o tóxicas, o ambas cosas. Son útiles para determinar la seguridad y calidad desde el punto de vista microbiológico.

El recuento de placas de bacterias aeróbicas mesófilas sigue siendo uno de los indicadores más útiles del estado microbiológico de las plantas. Un recuento viable indica frecuentemente la continuación de las plantas, un estado sanitario poco satisfactorio, condiciones de tiempo y temperaturas no idóneas durante la producción o almacenamiento, por consiguiente las bacterias aeróbicas mesófilas pueden considerarse como organismos indicadores aunque advierten del peligro del producto con mucha menos precisión y seguridad de los indicadores.

Factores ambientales que influyen en el crecimiento bacteriano:

1. Nutrientes.

Los coliformes crecen poco sobre una gran variedad de substrato y aprovechan una gran variedad de carbohidratos. Las bacterias varían también en sus necesidades vitamínicas o Factores suplementarios de crecimiento entre ellos están: los ***Staphylococcus aureus, Escherichia coli.***

2. Humedad.

Hay que poner de manifiesto que es la cantidad de agua disponible y no la humedad total la que determina el nivel de humedad mínimo para el crecimiento.



3. Temperatura.

Temperatura óptima, es aquella a la que mejor crece una bacteria, la mínima es la más baja a la que se desarrolla y máxima la más alta que permite su crecimiento. Las bacterias que crecen a la temperatura de refrigeración se denominan **Psicrófilas**.

4. Concentración de hidrógeno.

Cada organismo tiene un pH de crecimiento óptimo, mínimo y máximo. La mayoría de las bacterias crecen mejor a un pH casi neutro, algunas veces se ven favorecidas por una reacción ácida y otras crecen bien en medios débilmente ácidos o alcalinos.

5. Potencial oxido-reducción.

Las bacterias se clasifican como aerobios si necesitan oxígeno libre, anaerobios si no lo necesitan y crecen mejor en su ausencia, facultativas cuando crecen con o sin oxígeno libre.

Las sustancias oxidantes o reductoras de un medio lo convierten en favorables para el crecimiento de bacterias aerobias y anaerobias.

Acerca de las buenas prácticas de manufactura de fitofármacos

Las buenas prácticas de manufactura son pautas universales aplicadas en la producción farmacéutica. Los fitofármacos no tienen consideraciones especiales, pero existen algunas peculiaridades en el complejo de la producción y del control de calidad de los mismos.

Presentamos un resumen de los aspectos relacionados con el Control de Calidad considerados en las pautas adicionales a las buenas prácticas de manufactura conformadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS):



Las Especificaciones de calidad de la materia prima vegetal deben contemplar:

- Nombre botánico.
- Parte de la planta utilizada.
- En caso de planta seca, debe especificarse el sistema de secado.
- Descripción macro y micro morfológica.
- Ensayo de identificación, en el caso que sea posible, de los ingredientes activos o marcadores.
- Evaluación de los componentes de actividad terapéutica conocida o de marcadores.
- Métodos para determinar la posible contaminación con pesticidas y límites aceptables.
- Ensayos para la determinación de contaminación microbiana, incluyendo aflatoxinas e infestación por plagas y límites aceptados.
- Ensayos de metales pesados y adulterantes.

Detalles de la fuente de la planta (lugar de origen, fecha de cosecha, método de cosecha, pesticidas empleados, etc.). Cualquier tratamiento utilizado para reducir la Contaminación debe ser documentado. Los detalles del proceso deben ser reflejados, así como los límites de los residuos.

Con relación a las especificaciones del Producto Final, se exige que:

- El ensayo de control debe ser tal que refleje la determinación cualitativa y cuantitativa de la composición de los ingredientes activos y las especificaciones son dadas utilizando marcadores si se desconocen los constituyentes activos, de lo contrario, deben especificarse y determinarse cuantitativamente.
- Si el producto final contiene más de una materia vegetal o preparaciones de diversas drogas vegetales y no es posible la determinación cuantitativa de cada ingrediente, se efectúa la evaluación de la mezcla total.



Factores que afectan el crecimiento de microorganismos en los medios de cultivo.

Los medios de cultivos utilizados deben contener todos los nutrientes requeridos para el microorganismo a cultivarse y ciertos factores como temperatura, PH óptimo de crecimiento, aireación que deben ser controlados cuidadosamente.

Los agares son polisacáridos que se extraen de algas marinas y son particularmente adecuados para el cultivo microbiano, porque resiste la acción microbiana, generalmente se disuelven a 100°C, pero no forman gel hasta que se enfría por debajo de 45°C.

Para muchos microorganismos un solo compuesto (como un aminoácido) puede servir como fuente de energía, otros requieren compuestos diferentes.

Es importante a su vez considerar el PH óptimo para cada especie, generalmente los microorganismos neutrofilos crecen mejor a PH 6-8, algunos acidófilos tienen PH óptimo tan bajo como 3 y otros alcalófilos PH altos como 10.5.

La temperatura es otro aspecto importante que varía ampliamente, las formas psicrófilas crecen, mejor a temperaturas bajas 15-20 °C, las formas mesófilas lo hacen mejor 30-37°C, la mayor parte de las termófilas de 50-60°C.

Las temperaturas extremas inhiben el crecimiento de microorganismos, por lo que son bien utilizadas para esterilizar las preparaciones, el frío extremo igualmente inhibe el crecimiento de las células bacterianas, aunque su utilización no es segura para la esterilización.

Enumeración de bacterias aerobias mesófilas.

Este método se basa en la hipótesis de que las células microbianas contienen una muestra mezclada con un medio de agar, que forma cada una colonias visibles y separadas, para ellos se mezclan diluciones decimales de la muestra



homogenizada con el medio. Después de encubar las placas a 30 grados centígrados durante 72 horas se calcula el número de colonias obtenidas en capsulas petri elegidas con diluciones que den resultados significativos.

Desventajas

La célula microbiana se presenta a menudo en los té agrupados en racimos, cadenas o parejas que pueden estar no bien distribuidas cualquiera que sea la mezcla y la dilución de la muestra, por consiguiente cada colonia que se forma en la

Placa de agar puede proceder de una sola célula o grupo de células, por lo que, el conjunto de colonias puede no reflejar el número real de bacterias visibles contenidas en los té, además algunos microorganismos pueden no desarrollar ni formar colonias visibles en el medio de agar si las condiciones de temperatura, oxígeno o nutrición no son las favorables por la debilidad de las células.

Ventajas

- Permite comparar si el producto está dentro del rango para ser rechazado o aceptado.
- Es el indicador más útil del estado microbiológico de los tes.
- El recuento elevado predice la posibilidad que el té se descomponga, ya que la mayoría de ellos contienen $10^6 - 10^7$ microorganismos por gramo en el momento que la descomposición es evidente.

Coliformes

Al grupo de los coliformes pertenecen todas las bacterias que tienen forma de bastoncillos, que no forman esporas, que son gram negativos, aeróbicos facultativos que fermentan la lactosa, con formaciones de gases a cabo de 48 horas a la temperatura de 35 grados centígrados, a este grupo también pertenecen ciertas especies que habitan en el intestino o en medios no intestinales como el suelo y agua. Entre las bacterias que pertenecen a este grupo: *Escherichia coli* y las especies de los géneros ***Citrobacter***, ***enterobacter***, ***Klebsiella*** y ***Serratia***. Los



medios de ensayo son sólidos y líquidos, enriquecidos con lactosa y el único criterio para los coliformes es que produzcan ácidos y gases de la lactosa.

Bacterias coliformes

Son bacilos cortos gram negativos que pueden formar cadenas en condiciones de cultivos desfavorables aparecen formas filamentosas largas. Estos microorganismos por lo general no provocan enfermedades y pueden incluso contribuir al funcionamiento normal y a la nutrición.

Estos organismos solo se transforman en patógenos cuando alcanzan tejidos fuera del intestino particularmente las vías urinarias y las vías biliares.

Los pulmones provocan inflamaciones de estos sitios. Las bacterias coliformes pueden alcanzar la corriente sanguínea y provocar septicemia.

Hongos y levaduras.

Estos pueden ser beneficiosos o perjudiciales para las plantas. Las levaduras son unicelulares, algunas tiene forma cilíndricas y alargadas.

Las células de levaduras tienen dos – seis micrones de anchura y de diez a treinta micrones de longitud.

Los hongos son organismos fúngicos, comúnmente se les da el nombre de mohos a ciertos hongos multicelulares filamentosos y si bien se pueden observar a simple vista dotadas de un núcleo verdadero, microscópico y crecimiento en el producto se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso.

Limpieza, mantenimiento e higiene del personal en la producción primaria

Deberá disponerse de instalaciones y procedimientos apropiados que aseguren:

- Que toda operación necesaria de limpieza y mantenimiento se lleve a cabo de manera eficaz.
- Que se mantenga un grado apropiado de higiene personal.



Especificaciones de Contaminación microbiológica

Los microorganismos patógenos pueden pasar de un alimento a otro por contacto directo o bien a través de quienes los manipulan, de las superficies de contacto o del aire. Los alimentos sin elaborar deberán estar claramente separados, en el espacio o en el tiempo, de los productos alimenticios listos para el consumo, efectuándose una limpieza intermedia eficaz y, cuando proceda, una desinfección.

Puede ser preciso restringir o controlar el acceso a las áreas de elaboración. Cuando los riesgos sean particularmente altos, puede ser necesario que el acceso a las áreas de elaboración se realice exclusivamente pasando a través de un vestuario.

Se podrá tal vez exigir al personal que se ponga ropa protectora limpia, incluido el calzado, y que se lave las manos antes de entrar.

Las superficies, los utensilios, el equipo, los aparatos y los muebles se limpiarán cuidadosamente y, en caso necesario, se desinfectarán después de manipular o elaborar materias primas alimenticias, en particular la carne.

Requisitos relativos a las materias primas

No se deberá aceptar ninguna materia prima o ingrediente en un establecimiento si se sabe que contiene parásitos, microorganismos indeseables, plaguicidas, medicamentos veterinarios, o sustancias tóxicas, descompuestas o extrañas que no se puedan reducir a un nivel aceptable mediante una clasificación y/o elaboración normales. Cuando proceda, deberán determinarse y aplicarse especificaciones para las materias primas. Cuando proceda, las materias primas o ingredientes deberán inspeccionarse y clasificarse antes de la elaboración. En caso necesario, deberán efectuarse pruebas de laboratorio para establecer si son idóneos



para el uso. Solamente se utilizarán materias primas o ingredientes sanos y adecuados.

Envasado

El diseño y los materiales de envasado deberán ofrecer una protección adecuada de los productos para reducir al mínimo la contaminación, evitar daños y permitir un etiquetado apropiado. Cuando se utilicen materiales o gases para el envasado, éstos no deberán ser tóxicos ni representar una amenaza para la inocuidad y la aptitud de los alimentos en las condiciones de almacenamiento y uso especificadas. Cuando proceda, el material de envasado reutilizable deberá tener una duración adecuada, ser fácil de limpiar y, en caso necesario, de desinfectar.

La comisión del codex alimentarias y el programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias

La Comisión del Codex Alimentarius pone en ejecución el Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias que tiene por objeto proteger la salud de los consumidores y asegurar prácticas equitativas en el comercio de los alimentos. El Codex Alimentarius (que en latín significa Código o Ley de los Alimentos) es una colección de normas alimentarias internacionales aprobadas, presentadas de manera uniforme que contiene también disposiciones de carácter consultivo, en forma de códigos de prácticas, directrices y otras medidas recomendadas, destinadas a alcanzar los fines del Codex Alimentarius. La Comisión expresó la opinión de que los Códigos de prácticas podrían utilizarse como listas útiles de verificación de los requisitos por las autoridades nacionales competentes encargadas de vigilar la observancia de las disposiciones sobre higiene de los alimentos.

La finalidad de su publicación es que sirva de orientación y fomente la elaboración y el establecimiento de definiciones y requisitos aplicables a los alimentos con miras a su armonización y, de esta forma, facilitar el comercio internacional.



Determinación microbiológica: Conteo total de microorganismos

El material de plantas medicinales puede contener concentraciones altas de microorganismos y variedad de grupos microbianos; esto es debido a la relación que las plantas tienen con la tierra, siendo esta última el mayor reservorio de microorganismos en la naturaleza.

Los productos agrícolas, por tanto, suelen encontrarse naturalmente contaminados y durante el procesamiento tecnológico; si la higiene resulta deficiente, la contaminación puede aumentar.

Las bacterias están representadas por una gran variedad de géneros, siendo el género bacilos el más representativo; Esto se debe a la facultad de esporulación, que las hacen resistente a cualquier cambio del medio ambiente.

El carácter saprofito de los hongos y levaduras propicia su amplia distribución en el medio ambiente y por contacto directo con la tierra o a través del polvo llegan fácilmente a los productos.

El recuento de microorganismos tiene importancia como recurso para apreciar algunos aspectos de la higiene aplicada durante la elaboración, para seguir la eficacia de tratamientos germicidas (físico o químico) y, en determinadas circunstancias, para los riesgos que puedan resultar en la formación de sustancias tóxicas al incrementar su número ciertas especies de microorganismos en el producto.

Dentro del grupo de técnicas que se utilizan para realizar el conteo total de microorganismos, los más usados en productos farmacéuticos son Conteo en Placa, Tubos Múltiples y Filtración por membrana.

La elección de una de estas técnicas se basa en solubilidad y naturaleza del producto si el mismo contiene sustancias con propiedades antimicrobianas y la estimación del grado de contaminación.



Se prepara la dilución adecuada, con la cual se obtiene el número de unidades formadora de colonias (u.f.c.) por g o ml de la muestra que corresponda con los límites establecidos en la técnica seleccionada. Se toman 10g o 10ml del material a menos que se sugiera otra cantidad de muestra.

Determinación de Staphylococcus aureus.

Los *staphylococcus* están entre las bacterias no esporuladas más resistentes al calor, desecación, congelación, acción de las radiaciones solares y las sustancias químicas.

En estado de desecación conservan su vitalidad durante más de 6 meses, pueden soportar calentamiento hasta 70 °C durante más de una hora, mueren a 80 °C entre 10 y 60 minutos, son resistentes a la penicilina y otros antibióticos.

En los medicamentos también pueden presentar contaminación con *Staphylococcus aureus* debido a materia prima contaminada o por malas prácticas higiénicas durante su fabricación. Se establece la técnica para su investigación en los productos no estériles, utilizando caldo de enriquecimiento y medio de cultivo muy selectivos para su aislamiento e identificación.

Se establece que las preparaciones con más riesgo son las preparaciones tópicas (crema, ungüento o pomadas y lociones), materias primas de origen natural y preparaciones orales en las cuales el riesgo de proliferación microbiana es alto.

En las plantas medicinales, debido al riesgo que pueden presentar para el consumidor, también se establecen los procedimientos para la investigación de la presencia de *S.aureus*.

Determinación de Pseudomonas aeruginosa

La *Pseudomonas Aeruginosa* muere por calentamiento a 55°C durante 1 hora, pero es resistente a los antisépticos químicos usuales y a la penicilina, más que otro



bacilo Gram negativo. Es un organismo inestable y se han reportado cepas no productoras de pigmentos; produce una endotoxina poderosa y específica de la especie. Crece en casi todos los sustratos utilizados en el laboratorio a temperatura entre 5 y 42°C.

Una fuente especial de contaminación con este germen, lo constituyen el agua desionizada o destilada que se mantiene almacenada para la fabricación de medicamentos.

La *Pseudomonas* pueden llegar por diferentes vías a contaminar producto farmacéuticos, por lo que su búsqueda se realiza de forma rutinaria en este tipo de producto.

Las soluciones tópicas y orales, que tienen vehículo acuoso y componentes nutritivos que propician una alta viabilidad y preparaciones secas en las que puede haber contaminaciones resistentes al secado, son susceptibles a la contaminación de este tipo de gérmenes.

Esta bacteria también puede contaminar las plantas medicinales y los medicamentos elaborados a partir de sus extractos, debido al contenido de nutrientes que pueden servir de sustrato a la misma.

Determinación de Enterobacteriaceae

Las enterobacterias pueden encontrarse parasitando animales y plantas; en estas últimas ocasiones la marchitez y el reblandecimiento de la raíz.

Hace 25 años se plantearon estudios donde microorganismos patógenos pertenecientes a esta familia, fueron aislados en bajos por ciento de muestra de plantas. Tales afirmaciones fueron hechas hace mucho tiempo y se fundamentaron en observaciones realizadas entonces, por lo tanto parecía razonable considerar que con los nuevos y más amplios sistemas de explotación del campo y el mayor acceso



del hombre a él, la diseminación de estos microorganismos entre las plantas se ha incrementado notablemente.

Los vegetales pueden servir de reservorio de cepas de bacterias patógenas, sin merma en su virulencia, señalando así un riesgo a la salud pública. Dentro de las enterobacterias se encuentran microorganismos patógenos que son ampliamente conocidos y otros que su patogenicidad se discute;

también al establecerla ampliamente conocidos y otros que su patogenicidad se discute; también al establecer la identificación por técnicas bioquímicas entre una especie y otra, las diferencias muchas veces son muy sutiles, si a esto se le agrega, las mutaciones que pueden originarse en los microorganismos que están en las plantas medicinales y sus extractos al ser expuestos a tratamientos germicidas tanto químico como físicos, a extracciones con solventes que tienen actividad germicida y a la adición de agentes preservantes, estas mutaciones pueden dar lugar a que la identificación de los microorganismos se haga muy difícil.

Todo lo anteriormente expuesto nos da una idea de la importancia del estudio de este tipo de contaminación en el material de plantas medicinales y sus productos terminados desde el punto de vista higiénico-sanitario de su tratamiento microbiológico, utilizando técnicas confiables.

Consecuentemente las enterobacterias emergen en la microbiología sanitaria con un triple significado; como indicadores de contaminación fecal o de malas prácticas higiénicas de trabajo en el manejo de las materias primas y de los productos finales y como agentes etiológicos de enteritis.

Determinación de Salmonella



El género *Salmonella* es quizás el microorganismo más extensivamente estudiado entre los patógenos que pueden ser aislado de los productos para consumo humano (alimentos, medicamentos), etc.

La sobre vivencia de *Salmonella* en el medio ambiente fuera del cuerpo del hombre y de los animales, esta determinada por el grado de humedad ambiental, la temperatura, la exposición a agentes germicidas y a la composición del material en que se encuentre.

Los métodos de cultivo consisten, en una sucesión de etapas: pre-enriquecimiento – enriquecimiento – alimento – pruebas bioquímicas y de cultivo y pruebas serológicas.

Determinación de Escherichia coli

El hábitat natural de la *E. coli* es el contenido intestinal del hombre y los animales mayores. A partir de este material, el germen se dispersa en el medio ambiente y según el sustrato sobre el cual finalmente se deposita tiene tres perspectivas: sobrevive, desarrolla o muere.

En los dos primeros casos tales sustratos pueden constituirse a la vez en fuentes de contaminación hacia nuevos objetivos y es entonces cuando su naturaleza no se puede definir y la interpretación de los resultados se hace errática.

En el material de plantas medicinales y sus extractos es importante diseñar una serie de investigaciones sobre concentraciones y tiraje de microorganismos que garanticen la recuperación de la contaminación microbiana.

La *E. coli* constituye en las aguas negras el 75% de la flora coliforme presente. En las hojas de las plantas, en las flores y en los insectos también se pueden encontrar. Debido a las consecuencias que pueden resultar del empleo de aguas contaminadas para el riesgo de tierras destinadas al cultivo de vegetales comestibles, se ha propuesto una norma de 1000 *E. coli* por 100ml de agua para disminuir la contaminación del producto final.



La supervivencia del grupo *E.coli* fuera del intestino puede deberse a la influencia de factores como: la acción de la luz solar, la humedad, pH y materias orgánicas en la tierra.

Su hallazgo fuera del intestino, especialmente en cifras elevadas, se suele asociar con exposiciones a contaminaciones de origen fecal recientes.

La especificidad necesaria para aislar estos microorganismos, se basa en utilizar técnicas que tengan en cuenta el uso de agentes químicos inhibitorios para otros grupos de bacterias y la incubación a temperaturas elevadas entre 43-46°C.

HIPOTESIS

El presente estudio plantea la necesidad de determinar la calidad microbiológica de los Te que se comercializan en los supermercados de la ciudad de León (SALMAN, UNION, PALI, AHORRO); los cuales pueden contener una flora saprofita característica, así como la presencia de microorganismos patógenos, que se pueden poner en evidencia a través del control microbiológico del fitofármaco.

El método utilizado es el límite microbiano aplicado a medicamento no obligatoriamente estéril de tipo vegetal que reconocen hongos y levaduras apoyados por normas establecidas en la farmacopea alemana para productos terminados.



MATERIAL Y METODO

Tipo de Estudio:

El presente estudio es de tipo experimental y descriptivo.

Área de estudio:

Lo constituyó el área de Control de Calidad Microbiológico de Medicamentos del Programa de Aseguramiento de la calidad del Dpto. de Análisis de Tóxicos y Medicamentos de la Facultad de Ciencias Químicas UNAN-LEON.

Población y Muestra:

La población lo constituyeron todos los té que se comercializan en los centros antes mencionados de las diferentes distribuidoras y laboratorios tanto Nacionales como extranjeros, para un total de 75 incluyendo aquellos que tienen la denominación de alimenticios y así como los de carácter medicinal.

La muestra la constituyeron un total de 6 productos estos fueron seleccionados de acuerdo a ser los mas demandados por parte de los consumidores de estos 3 tienen carácter alimenticio (bebidas) y 3 de propiedades Fitofarmacéutica. Tanto para las de carácter alimenticio como de propiedades Fitofarmacéutica 1 de las 3 muestras corresponde a una de referencia.

Unidad de Análisis:



Para la evaluación de los resultados se determinó la cantidad de microorganismos viables presentes en la muestra, así como se evaluó la calidad microbiológica mediante la identificación de microorganismos patógenos, aplicado el límite microbiológico tanto para el recuento en placa como para la enumeración del NMP, recomendación establecida por las normas internacionales.

Plan de análisis:

Los resultados obtenidos muestran el número de unidades formadoras de colonias por gramos (recuento en placa) y por mililitros (Número más probable NMP) donde se establece la comparación con los estándares internacionales de la farmacopea Alemana, Farmacopea Herbolaria Mexicana, Y Codex de Alimentos.

(ver tabla de resultados Pág.)

Procedimiento Para la realización de los ensayos:

Para la realización del presente estudio monográfico se realizaron revisiones bibliográficas en la biblioteca del complejo docente de la salud (CAMPUS MEDICO); redes de información INTERNET, Sala de consulta del departamento de análisis de drogas, medicamentos y tóxicos; sala de consulta del Departamento de aseguramiento de la calidad.

Previo a la realización de los ensayos del presente estudio se procedió a la adquisición de las muestras esto fue realizado de manera directa en los centros distribuidores evaluados , donde se procedió a realizar un muestreo previo para determinar cuales eran los productos que mayormente se comercializaban y proceder a su adquisición mediante su compra en los centros antes mencionados , se obtuvieron paralelamente mediante coordinación de un laboratorio Nacional muestras para ensayos alternos del estudio, así mismo se estableció en el estudio comparar al menos un producto extranjero y dos productos de origen nacionales



para establecer comparación hipotética de la calidad de nuestros laboratorios Nacionales.

Procedimiento Analítico.

1. Preparación de la muestra

De acuerdo a las características físicas de la muestra, elegir el método adecuado para obtener una solución, suspensión o emulsión sin alterar el número y la clase de microorganismo. Los métodos de preparación de la muestra se describen a continuación, y constituyen la primera dilución del producto (10^{-1}).

Dilución que puede hacerse con solución diluida de Bacto peptona de PH 7.0, caldo digerido de caseína –soya- lecitina- polisorbato, caldo soya tripticaseina o caldo lactosado.

Cuando se analizan los líquidos no miscibles en agua, ungüentos o ceras, es necesario utilizar diluyentes adicionando el polisorbato 20 a concentraciones del 1 al 10%.

2. Sólidos y líquidos miscibles en agua

Pesar o medir exactamente 10gr o 10ml de muestra y transferirlos a 90 ml del diluyente seleccionado.

3. Dilución de la muestra

En función del grado de contaminación del producto efectuar las diluciones decimales que se estimen convenientes. Cuando no se tiene antecedentes al



respecto, es conveniente efectuar hasta la dilución 10^{-3} y ampliar o reducir el número de diluciones en base a la experiencia.

Para obtener la segunda dilución del producto transferir 1 ml de la primera dilución a un tubo conteniendo 9 ml de solución diluida de Bacto peptona de pH 7.0. Proseguir de igual forma para obtener las siguientes diluciones, utilizando una pipeta para cada dilución e inoculando simultáneamente las placas o tubos con la dilución correspondiente.

4. Determinación de bacterias aerobias mesófilas.

- a) se tomaron 25 gramos de muestra y se adiciono a 225 ml de la solución buffer pH 7.0.
- b) luego se realizaron diluciones hasta 10^{-7} según características.
- c) Se inoculo 1 ml de las tres últimas diluciones anteriormente preparada en plato petri y se agrego 18 ml de agar tripticaseina soya.
- d) Incubándolo a una temperatura de 35- 35 °c de 24 – 48 horas.
- e) Se realizo el conteo de colonias y se multiplico por el factor de diluciones.

5. Determinación de hongos y levaduras.

- a) se tomaron 25 gr de muestra y se adicionaron a 225 ml de solución buffet pH 7.0.
- b) luego se realizaron diluciones hasta 10^{-7} , según características de la muestra.
- c) Se inoculo 1 ml de cada una de las tres últimas diluciones preparadas en un plato petri y se adiciono 18 ml de agar sabouraud.
- d) Incubándolo a una temperatura de 20 °c de 5 a 7 días.
- e) *Se* realizo el conteo de colonias y se multiplico por el factor de dilución.



6. Recuento de hongos filamentosos y levaduras

Proceder como se indica en el recuento de organismos mesófilos aerobio, excepto que se utiliza el medio agar dextrosa sabouraud e incubar a 22.5 °C más o menos 2.5 °C de 5 a 7 días.

7. Identificación de microorganismos patógenos.

Método en tubo (NMP)

Colocar 9 tubos conteniendo 9ML de medio caldo verde brillante, en 3 hileras de 3 tubos cada una. Inocular 1 ml de las diluciones 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} en la primer, segunda y tercera hilera de tubos respectivamente, identificar cada hilera de tubos con la dilución inoculada.

Agitar los tubos e incubar a 35°C más o menos 2°C durante 24 - 48 horas. Después del periodo de incubación anotar el número de tubos de cada dilución con turbidez debido al crecimiento microbiano. Informar el número más probable de organismo por gr o ml del producto, utilizando la tabla 23. (Anexo 2)

8. Identificación de *Escherichia coli*.

- De la solución incubada en el método en tubos que presento turbidez se aisló con la ayuda de un asa en agar EMB.
- Se incubote 24 a 48hrs a 37° C.
- Se confirmo colonias sospechosas realizando tinción de Gram.

Determinaciones

El material pretratado con Caldo Lactosado, se homogeniza y se incuba de 35-37°C de 2-5 horas con el fin que las células bacterianas se recuperen de los daños sufridos debido a los tratamientos de desinfección o preservación.



Después se realiza una dilución al 10% en Caldo MacConkey para un volumen final de 100 ml. Se incuba entre 43-45°C durante 18-24 horas. Al finalizar la incubación se preparan subcultivos en placas que contengan medio de cultivo MacConkey Agar. Se incuba de 43-45°C durante 18-24 horas.

Si se detecta crecimiento de colonias rojas, generalmente no mucoides, formadas por bacilos Gram negativos, en algunos casos se puede notar una zona de precipitación de color rojizo alrededor de las colonias, se pasa a confirmar la presencia de ***E.coli***.

La confirmación se obtiene mediante las pruebas bioquímicas de fermentación de la lactosa y la formación de Indol a temperatura entre 43-45°C. Si no crecen colonias características o si las pruebas bioquímicas confirmatorias son negativas, el material pasa la prueba. En las pruebas bioquímicas se pueden dar falsos positivos que están súper editados a la temperatura de incubación.

9. Identificación de Staphylococcus Aureus.

- De la suspensión de muestra que se preparo se tomaron 10 ml adicionándolos en 90 ml de caldo triptica soya.
- Se inoculo por 24 horas a 37 °c.
- De la muestra incubada, se aisló con la ayuda de una asa en agar Bair parker. (110).
- Se incubo durante 48 horas a 37 °c.
- Se identificaron colonias sospechosas realizando tinción.

Procedimiento

De la muestra pretratada utilizando solución de Buffer Fosfato ph 7.2, se inocula 10ml en un erlenmeyer estéril y se agrega el medio de cultivo Caldo digerido de caseína y frijol de soya hasta completar los 100ml, Homogenice la muestra e incube de 32 a 35°C por 24 a 48 horas. Después de la incubación, se preparan subcultivos en medio de cultivo Agar Vogel-Johnson o Agar Manitol salado o Agar



Bair Parker. Se incuba de 35 a 37 °C por 24 a 48 horas, Si no aparecen colonias características, el material pasa la prueba.

Si las colonias son características; se deben confirmar con la prueba de la coagulasa.

El producto pasa la prueba si no se obtiene crecimiento característico o la prueba bioquímica es negativa.

10. Identificación de Pseudomonas aeruginosa.

- A partir de una solución preparada de muestra se toma una alícuota de 10ml luego se agrega en 90 ml de caldo triptica caseína soya.
- Se incuba por 24 - 48 hrs. a 37° c.
- De la muestra incubada, se aisló con la ayuda se una asa en agar cetrimide.
- Incubar 35-37°C durante 24-48 horas
- Si no hay crecimiento el material pasa la prueba.

Procedimiento

De la muestra pretratada utilizando solución Buffer Fosfato pH 7,2 se inocula 10ml en un erlenmeyer estéril y completa el volumen a 100ml con el medio de cultivo Caldo digerido de caseína y fríjol soya. Se homogeniza la muestra y se incuba de 35 a 37°C por 24 a 48 horas.

De aquí se preparan subcultivo en medio de cultivo Agar cetrimide, se incuba de 35 a 37°C por 48 a 72 horas. Si hay crecimiento, comprobar la morfología de las colonias, si esta coinciden realizar la prueba de oxidasa y verificar el desarrollo de pigmentos observando las placas a la luz ultravioleta.

Las colonias características de ***Pseudomonas aureginosa***, se siembran en los medios de cultivo Agar ***Pseudomonas*** para detectar fluoresceína y Agar ***Pseudomonas*** para detectar piocianina; incubar de 32 a 37°C por 48 a 72 horas.

Observando con luz ultravioleta las colonias desarrolladas y comprobar la morfología colonial; realizar la prueba de oxidasa.



El producto pasa la prueba, si no se obtiene crecimiento característica o las pruebas bioquímicas son negativas.

11. Identificación de Salmonella shiguella.

- Se toma una alícuota de 10 ml de la muestra y se adiciona a 90 ml del caldo selenito cistine.
- Incubar de 24 a 48 hrs. a 37° c.
- De la muestra incubada se aísla con la ayuda de un asa en agar XLD.
- Se incuba de 24 -48 hrs. de 35 a 37 ° c.
- Se confirman colonias sospechosas con tinción de Gram.

12. Recuento Aeróbico en Placa (Primera Etapa)

- Retratar material en amortiguador peptona-NaCl.
- Preparar dilución de acuerdo a método.
- Seleccionar método de cuantificar.
- Filtración por membrana.
- Recuento en placa de bacterias.
- Recuento de placa de hongos.
- Recuento por dilución seriada.

13. Recuento Aeróbico Total (Filtración por Membrana)

- Usar membranas de poro 0.45 um.
- Transferir 10 ml contenido 1 g de material.
- Si es necesario diluir hasta recuento 10-100.
- Lavar cada membrana, filtrar 2-3 veces.
- Transferir la membrana a placa de caseína – soya.
- Incubar 5 días a 30-35°C (Bacterias) o 20-25°C (Hongos).
- Cuente y calcule el número de colonias formadas.



14. Recuento Aeróbico Total en Placa (Recuento de Bacterias)

- A placas de Petri de 10 cm. de diámetro agregar:
- 1 ml de material a 15 ml de agar caseína – soya.
- Puede inocularse en superficie la misma cantidad.
- Si es necesario diluir hasta obtener recuentos de 300ufc/g.
- Preparar 2-3 placas con las mismas diluciones.
- Incubar 5 días a 30-35°C o hasta recuento confiable.
- Cuente y calcule el número de colonias formadas.

15. Recuento Aeróbico Total en Placa (Recuento de Hongos)

- A placas de Petri de 10 cm. de diámetro agregar 1 ml de material a 15 ml de agar Sabouraud glucosa.
- Puede inocularse en superficie la misma cantidad.
- Si es necesario diluir hasta obtener recuentos de 100.
- Preparar 2-3 placas con las mismas diluciones.
- Incubar 5 días a 20-25°C o hasta recuento confiable.
- Cuente y calcule el número de colonias formadas.

16. Recuento Aeróbico en Placa (Método de Dilución)

- Preparar 12 tubos con 9-10 ml de soya – caseína.
- Agregar 1 ml de homogenizado 1:10 a tres filas.
- Agregar 1 ml de homogenizado 1:100 a tres filas.
- Agregar 1 ml de homogenizado 1:1000 a tres filas.
- Incubar a 30-35°C durante 5 días.
- No debe haber crecimiento en últimos tres tubos.
- Determinar el número más probable (NMP/gr o ml).



Medios de cultivo y soluciones

- Solución Bacto peptona de Ph=7.
- Medio de caldo digerido de caseína y frijón de soya.
- Medio de caldo selenito cistine.
- Medio de caldo verde brillante.
- Medio de agar saubouraud
- Medio de agar tripticaseina soya.
- Medio de agar XLD para Salmonella y Shiguella.
- Medio de agar cetrimide para Pseudomona.
- Medio de agar Bair Parker para estaphylococcus.
- Medio de agar EMB para E.Coli.

Material y Equipos

En el desarrollo experimental del presente trabajo monográfico se utilizaron los siguientes equipos y materiales:

Cristalería:

Erlenmeyer, vidrio reloj, probeta, pipetas, tubos de ensayo, platos petri estándar, beaker, termómetro.

Equipos:

Balanza analítica(Sartorius Modelo A-210P) cocina eléctrica(Corning Hot Plate Modelo PC-100), horno(Precision Cientific), agitador(Vortex Genie Modelo H-550-G),soportes, aros, mallas, autoclave(Omni-Clave Modelo OCM-A3),autoclave(Electric-Steroclave Modelo 25X) mecheros, incubadora(Precision Cientific Modelo 6M),equipo de baño María (Precision Scintific Modelo 270),Horno(Precision Scintific 368-A) ,pana de baño maría, horno regulable de 95 a 205^oc, gradillas metálicas, espátula , asas, contador de colonias, microscopio óptico.



Material complementario (descartable):

Papel de aluminio, guantes, naso buco, gorro, aplicador de alcohol.

Interpretación de los resultados

Se proponen estos límites, según el uso a que se destine el producto y el material en sí mismo.

Estos límites se establecen para plantas medicinales tomando en cuenta que por su naturaleza se semejan más a los alimentos que a los medicamentos.

El material de plantas medicinales dado su origen puede aceptar una carga microbiana elevada, deben excluirse específicamente, en tal caso, ciertos microorganismos o especies patógenas o potencialmente patógenas; por otro lado, la presencia de ciertas especies que sirven de indicadores de contaminación fecal, es un signo de condiciones higiénicas no satisfactorias durante su elaboración.

Los productos elaborados con extractos de plantas medicinales se consideran como medicamentos, por lo que sus límites se evalúan por las normas establecidas para los mismos. Se encuentran referidos en la Norma Cubana 26-121 1992 Medicamentos no Estériles. Límites Microbianos.



RESULTADOS

Descripción de las tablas

1. desde la tabla 1 hasta la 8 citan la determinación de bacterias aerobias mesófilas, hongos y levaduras, coliformes totales y caldos de enriquecimiento para resiembra.
2. . En la tabla 9 cita el ensayo de control de ambiente en agar T.C.A y Sabouraud.
3. En la tabla 10 cita la resiembra en agar para determinar la presencia de microorganismos específicos



TABLA DE LOS RESULTADOS

Muestra Analizada	Limite 10 ⁻⁵	T.C.A			Sabraud			NMP			C.Selenito	C.T.C.S.
		10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷			
Referencia.1	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.2	82ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.2	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.3	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.3	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.4	>300ufc/ g	>300ufc/ g	68ufc/ g	>3000ufc/ g	>300ufc/ g	280ufc/ g	3ufc/g	3ufc/g	3uf/g	3uf/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.4	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.5	4ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufcc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Referencia.5	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufcc/ g	0ufcc/ g	0ufcc/ g	Negativo.	Negativo.
Muestra.6	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.6	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9uf/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2uc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.7	6ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.7	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.8	4ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	21ufc/g	10ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.8	25ufc/g	5ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.9	5ufc/g	4ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Referencia.9	25ufc/g	5fc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.

NOTA: UFC/GR SIGNIFICA UNIDAD FORMADORA DE COLONIAS POR GRAMOS



TABLA DE LOS RESULTADOS

Muestra Analizada	Limite	T.C.A			Saburaud			NMP			C.Selenito	C.T.C.S.
		10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷		
Referencia.1	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.2	82ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.2	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.3	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.3	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.4	>300ufc/g	>300ufc/g	68ufc/g	>3000ufc/g	>300ufc/g	280ufc/g	3ufc/g	3ufc/g	3uf/g	3uf/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.4	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.5	4ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufcc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Referencia.5	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.6	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.6	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9uf/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2uc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.7	6ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.7	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.8	4ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	21ufc/g	10ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.8	25ufc/g	5ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.						
Muestra.9	5ufc/g	4ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.						
Referencia.9	25ufc/g	5fc/g	1ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.						



TABLA DE LOS RESULTADOS

Muestra Analizada	Limite			Saburaud			NMP			C.Selenito	C.T.C.S.
	10 ⁻⁵	T.C.A 10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷		
Referencia.1	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.2	82ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.2	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.3	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.3	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.4	>300ufc/g	>300ufc/g	68ufc/g	>3000ufc/g	>300ufc/g	280ufc/g	3ufc/g	3ufc/g	3uf/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.4	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.5	4ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufcc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Referencia.5	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.6	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.6	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9uf/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2uc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.7	6ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.7	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.8	4ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	21ufc/g	10ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.8	25ufc/g	5ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.9	5ufc/g	4ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Referencia.9	25ufc/g	5fc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.



TABLA DE LOS RESULTADOS

Muestra Analizada	Limite	T.C.A			Saburaud			NMP			C.Selenit o	C.T.C.S.
		10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷		
Referencia.1	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.2	82ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo	Positivo.
Referencia.2	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.3	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo	Positivo.
Referencia.3	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.4	>300ufc/g	>300ufc/g	68ufc/g	>3000ufc/g	>300ufc/g	280ufc/g	3ufc/g	3ufc/g	3uf/g	3uf/g	Negativo	Positivo.
Referencia.4	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo	Negativo.
Muestra.5	4ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufcc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo	Negativo.
Referencia.5	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	Negativo	Negativo.
Muestra.6	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo	Positivo.
Referencia.6	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9uf/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2uc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo	Positivo.
Muestra.7	6ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo	Positivo.
Referencia.7	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo	Positivo.
Muestra.8	4ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	21ufc/g	10ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo	Positivo.
Referencia.8	25ufc/g	5ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	Negativo	Negativo.						
Muestra.9	5ufc/g	4ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.						
Referencia.9	25ufc/g	5fc/g	1ufc/g	0ufc/g	Negativo	Negativo.						



TABLA DE LOS RESULTADOS

Muestra Analizada	Limite	T.C.A			Saburaud			NMP		C.Selenito	C.T.C.S.	
		10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶			10 ⁻⁷
Referencia.1	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.2	82ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.2	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.3	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.3	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.4	>300ufc/g	>300ufc/g	68ufc/g	>3000ufc/g	>300ufc/g	280ufc/g	3ufc/g	3ufc/g	3uf/g	3uf/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.4	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.5	4ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufcc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Referencia.5	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.6	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.6	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9uf/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2uc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.7	6ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.7	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.8	4ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	21ufc/g	10ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.8	25ufc/g	5ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.9	5ufc/g	4ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Referencia.9	25ufc/g	5fc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.



TABLA DE LOS RESULTADOS

Muestra Analizada	Limite	T.C.A			Saburaud			NMP			C.Selenito	C.T.C.S.
		10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷		
Referencia.1	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.2	82ufc/ g	9ufc/g	0ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.2	47ufc/ g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.3	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.3	47ufc/ g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.4	>300uf c/g	>300uf c/g	68ufc/g	>3000u fc/g	>300ufc/ g	280ufc/ g	3ufc/g	3ufc/g	3uf/g	3uf/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.4	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.5	4ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufcc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Referencia.5	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.6	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.6	45ufc/ g	13ufc/g	4ufc/g	9uf/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2uc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.7	6ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.7	45ufc/ g	13ufc/g	4ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.8	4ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	21ufc/g	10ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.8	25ufc/ g	5ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.						
Muestra.9	5ufc/g	4ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.						
Referencia.9	25ufc/ g	5fc/g	1ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.						



TABLA DE LOS RESULTADOS

Muestra Analizada	Limite	T.C.A	T.C.A	T.C.A	Saburaud	Saburaud	Saburaud	NMP	NMP	NMP	C.Selenito	C.T.C.S.
	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷			
Referencia.1	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.								
Muestra.2	82ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.2	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.3	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.3	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.4	>300ufc/g	>300ufc/g	68ufc/g	>3000ufc/g	>300ufc/g	280ufc/g	3ufc/g	3ufc/g	3uf/g	3uf/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.4	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.5	4ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufcc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Referencia.5	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.6	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.								
Referencia.6	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9uf/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2uc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.7	6ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.7	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.8	4ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	21ufc/g	10ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.8	25ufc/g	5ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.9	5ufc/g	4ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Referencia.9	25ufc/g	5fc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.



TABLA DE LOS RESULTADOS

Muestra Analizada	Limite			Saburaud			NMP			C.Selenit o	C.T.C.S.
	10 ⁻⁵	T.C.A 10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷		
Referencia.1	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.2	82ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.2	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.3	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0uf/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.3	47ufc/g	9ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Muestra.4	>300ufc /g	>300ufc /g	68ufc/g	>3000uf c/g	>300ufc /g	280ufc /g	3ufc/g	3ufc/g	3uf/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.4	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.5	4ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufcc/ g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Referencia.5	5ufc/g	2ufc/g	1ufc/g	12ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	2ufc/g	0ufcc/g	0ufcc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.6	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.6	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9uf/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2uc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.7	6ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.7	45ufc/g	13ufc/g	4ufc/g	9ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	3ufc/g	2ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Muestra.8	4ufc/g	3ufc/g	1ufc/g	21ufc/g	10ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Positivo.
Referencia.8	25ufc/g	5ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.
Muestra.9	5ufc/g	4ufc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Positivo.	Positivo.
Referencia.9	25ufc/g	5fc/g	1ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	0ufc/g	Negativo.	Negativo.



TABLA DE CONTROL DE MEDIO

Numero de Ensayo	Resultados 1		Resultados 2		Resultado 3		Resultados 4		Resultados 5		Resultados 6		Resultados 7		Resultados 8	
	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S
1	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2
	ufc/m ²	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²							
2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2
	ufc/m ²	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²							
3	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3
	ufc/m ²	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²							
4	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3
	ufc/m ²	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²							
5	5	2	5	2	5	2	5	2	5	2	5	2	5	2	5	2
	ufc/m ²	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²							
6	5	2	5	2	5	2	5	2	5	2	5	2	5	2	5	2
	ufc/m ₂	ufc/m ²	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²						
7	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3
	ufc/m ²	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²							
8	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3	5	3
	ufc/m ²	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ₂	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²	ufc/m ²							



TABLA DE RESIEMBRAS

Numero de Ensayo	Resultados				Tinción De Gram.
	A.EMB	A.XLD	A.CETRIMIDE	A.110	
Referencia.1	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Positivo.	Bacillo Gram. +
Muestra.2	Positivo.	Positivo.	Negativo.	Positivo.	Bacillo Gram.+
Referencia.2	Positivo.	Positivo.	Negativo.	Positivo.	Bacillo Gram.+
Muestra.3	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Positivo.	Bacillo Gram.+
Referencia.3	Positivo.	Positivo.	Negativo.	Positivo.	Bacillo Gram.+
Muestra.4	Negativo.	Negativo.	Positivo.	Negativo.	Negativo.
Referencia.4	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.
Muestra.5	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.
Referencia.5	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.
Muestra.6	Negativo.	Negativo.	Positivo.	Positivo.	Bacillo Gram. +
Referencia.6	Positivo.	Negativo.	Positivo.	Positivo.	Bacillo Gram. +
Muestra.7	Negativo.	Negativo.	Positivo.	Positivo.	Bacillo Gram. +
Referencia.7	Positivo.	Negativo.	Positivo.	Positivo.	Bacillo Gram. +
Muestra.8	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.
Referencia.8	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.
Muestra.9	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Positivo.	Negativo.
Referencia.9	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.	Negativo.



ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Las muestras analizadas presentan una cantidad de bacterias aerobias mesófilas mayor de 300 ufc/gr y de referencia es 47 ufc/gr, para el cual ambos valores no superan los criterios microbiológicos para productos terminados de origen natural.

En relación a la determinación de hongos y levaduras en los té analizados encontramos que el número de colonias en las muestras es mayor de 300 ufc/g y de referencia 12 ufc/g, donde en la muestra el valor está por encima de los límites establecidos y en la referencia el valor está dentro de los límites en preparaciones de administración para productos terminados de origen natural.

En la determinación de coliformes totales, la cantidad presente encontrada en la muestra es 1100 ufc/gr y en la referencia es 990 ufc/gr, lo cual permite que ambos productos estén dentro de los límites establecidos por la tabla de números más probables de microorganismos por gramos o mililitros.

En el análisis de la resiembra realizada a cada muestra de té, se presentó ausencia de microorganismos patógenos (E.C, PS, ST, S.S) y presencia de un bacilo esporulado gram positivo (SP). Utilizando tinción de gram como prueba de confirmación se afirma la presencia de bacillo.

En el ensayo del control de ambiente encontramos presencia de bacterias aerobias mesófilas 5 ufc/m² en hongos y levaduras se presentaron 3 ufc/m²



CONCLUSIÓN

El total de microorganismos identificados corresponden a un bacillo gram positivo SP (especie desconocida), encontrando ausencia total de microorganismos patógenos.

De las seis muestras seleccionadas para el ensayo microbiológico entre las de mayor demanda por la población tenemos:

Los presentes resultados muestran que existe en cierta medida una mayor grado de contaminación de los productos de origen nacional que los importados (productos de origen extranjeros)

En la determinación de hongos y levaduras el mayor grado de contaminación se encontró en las muestras que en el producto de referencia, sin embargo los valores encontrándose se encuentran dentro de los valores de rango para hongos y levaduras.



RECOMENDACIONES

- Continuar controlando la calidad microbiológica de los diferentes tès que se comercializan en el país proporcionalmente el nacional como el extranjero.

- Profundizar este estudio para identificación de otros microorganismos patógenos y no patógenos y optimizar así el margen de rechazo y aceptación del té.

- Proponer al MINSA una supervisión de control microbiológico de té que se comercializan en Nicaragua como producto de origen natural lote a lote.



BIBLIOGRAFIA

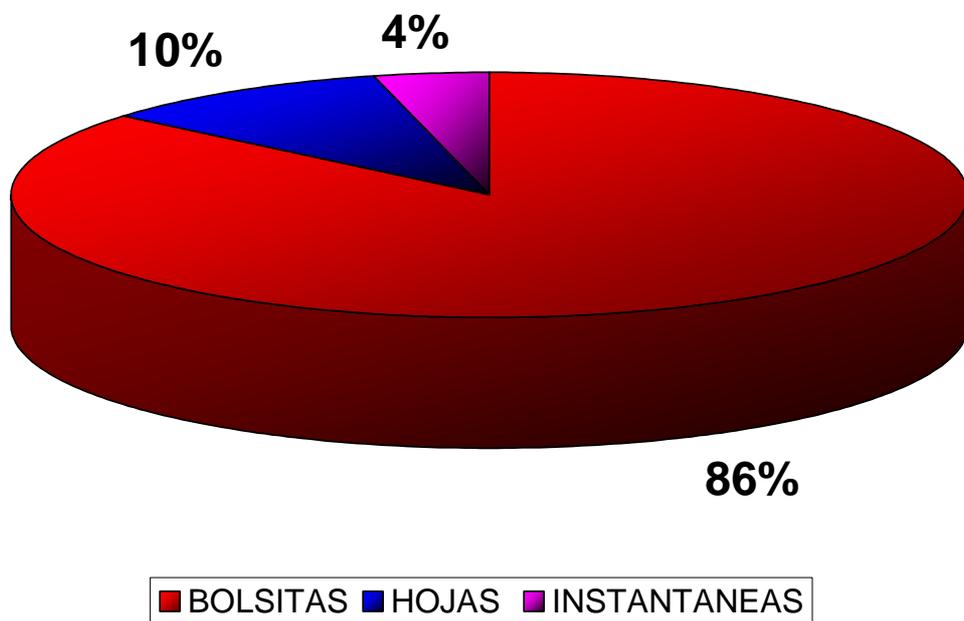
- México, CIPAM, Guía de Prácticas Adecuadas de Manufactura de Cuartos Limpios, 1988-1989.
- OMS, Guía de Buenas Prácticas de Producción de Productos Farmacéuticos, Parte IV, 1990.
- CEE. Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos Vol. IV, 1989.
- Venezuela. Normas de Buenas Prácticas de Fabricación en la Industria Farmacéutica. Capítulo 8. 1990.
- Fernández Escartín E. 1981. Microbiología Sanitaria agua y alimentos. Vol. 1. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México.
- OMS. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, Medidas de Seguridad en Microbiología, 1990.
- WHO-PHARM. Quality Control Method for Medicinal Plant Material. 92-559. 1992.
- NC 26-121:92 Medicamentos no estériles. Determinaciones microbiológicas
- NC 26-121-1:93 Medicamentos no estériles. Límite Microbiano.
- Second joint report of the Comité of Oficial Laboratorios and Drug Control Services, and the Section of Industrial Pharmacists FIP. Microbiological purity of non-compulsorily sterile pharmaceutical preparations. Methods of examination.
- WHO-PHARM. Quality Control Method for Medicinal Plant Material 92-559 1992.
- METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION, Francisca H de Canales, segunda edición.
- METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION, Julio Piura.



ANEXOS

ANEXO 1

USO MUNDIAL DE LOS TÉ EN DIFERENTES PRESENTACIONES





ANEXO 2

Numero más probable de microorganismos

<i>Numero de tubos positivos mg o ml de la muestra por tubo</i>			<i>NMP por g o ml</i>
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
0.1 mg o ml	0.01 mg o ml	0.001 mg o ml	
3	3	3	> 1100
3	3	2	1100
3	3	1	500
3	3	0	200
3	2	3	290
3	2	2	210
3	2	1	150
3	2	0	90
3	1	3	160
3	1	2	120
3	1	1	70
3	1	0	40
3	0	3	95
3	0	2	60
3	0	1	40
3	0	0	23
2	2	1	28
2	2	0	21
2	1	1	20
2	1	0	15
2	0	1	14
2	0	0	9
1	2	0	11
1	1	1	11
1	1	0	7
1	0	1	7
1	0	0	4
0	1	0	3
0	0	1	3
0	0	0	3

ANEXO 3



<i>CALCULO DEL NÚMERO MAS PROBABLE DE ENTEROBACTERIAS (RECUENTO EN PLACA)</i>	
Medio	Descripción de la colonia
Agar citrato desoxicolato	bien desarrollada, incolora
Agar XLD	desarrollada, roja, centro negro
Agar verde brillante	pequeña, transparente, opaca o Incolora, Rosada o blanca.

**ANEXO 4****Características de *Pseudomonas aeruginosa***

Medio de Cultivo	Morfología de las colonias	Tinción de Gram	Prueba de oxidasa
Agar Cetrímide	Colonias verdes azulosas, a la luz ultravioleta se observan verdosa	Bacilo Gram neg	Positiva
Agar <i>Pseudomonas</i> para detectar fluoresceína	Colonias incoloras o amarillentas, a la luz ultravioleta se observan amarillentas.	Bacilo Gram neg	Positiva
Agar <i>Pseudomonas</i> para detectar picrocianina	Colonia verde azulosas, a la luz ultravioleta se observan verde-azul	Bacilo Gram neg	Positiva

ANEXO 5**Características del *Staphylococcus aureus***

Medio de cultivo	Morfología de las colonias	Tinción de Gram
Agar Vogel-Johnson	Colonias negras rodeadas de una zona amarilla.	Coco Gram (racimos)
Agar manitol salado	Colonias negras amarillas rodeadas de una zona amarilla	Coco Gram posit
Agar Baird-Parker	Colonias negras lustrosas rodeadas de zona clara de 2-5 mm de diametro	Coco Gram posit



ANEXO 6

Características de las colonias y pruebas bioquímicas de Salmonella sp

<i>Medio de cultivo</i>	<i>Características morfológica de las colonias</i>	<i>Tinción de Gram</i>
Agar Salmonella Shiguella	Colonias incoloras, transparentes, pueden presentar el centro negro	Bacillos Gram negativo
Agar Bismuto Sulfito	Colonias con forma de ojo de conejo, de color negro, puede presentar brillo metálico alrededor de las colonias.	Bacillos Gram negativos
Agar verde brillante	Colonias rojas, rodeadas de una zona rojo brillante	Bacilo Gram negativo
Agar Hierro Tres Azucares	El fondo del medio de color amarillo, puede presentar una coloración negra por producción de Sulfuro de Hidrogeno y gas que se detecta por rompimiento del agar, superficie roja o amarilla.	Bacilo Gram negativo



Límites propuestos para materiales de Plantas medicinales

Los Límites se interpretan:

10^2 microorganismos – límite máximo aceptable 5×10^2

10^3 microorganismos – límite máximo aceptable 5×10^3

a) Contaminación de material “crudo” destinado a un procesamiento posterior (incluyendo descontaminación adicional mediante cualquier proceso físico o químico) Los límites se dan para material no tratado cosechado bajo condiciones higiénicas aceptables (estos podrían indicar posiblemente problemas que ocurren durante la manipulación y necesitan una descontaminación posterior).

Por gramo: - máximo 10^4 *Escherichia coli*

- máximo 10^5 propagulas de hongo

b) Materiales de plantas que se han pretratados (Ej. Agua hirviendo, cuando se usa para hacer decocción medicinal o infusión) o si el material se usa para formas farmacéuticas tópicas.

Por gramo: - máximo 10^7 bacterias aeróbicas

- máximo 10^3 *Saccaromyces e Hiphomycetes*

- máximo 10^2 *Escherichia coli*

- máximo 10^4 otras enterobacterias

- No *Salmonella*

- No *Pseudomonas aeruginosa*

- No *Staphylococcus aureus*

c) Otros materiales de plantas de uso interno

Por gramo: - máximo 10^5 bacterias aeróbicas

- máximo 10^3 *Saccaromyces e Hiphomycetes*



- máximo 10^1 *Escherichia coli* otras enterobacterias
-
- máximo 10^3 otras enterobacterias
-
- No *Salmonella*
- No *Pseudomonas aeruginosa*
- No *Staphylococcus aureus*

A esta propuesta de límite se le ha adicionado la *Pseudomonas aeruginosa* y el *Staphylococcus aureus* en los epígrafes b y c debido al alto grado de patogenicidad de estas especies y al riesgo que estos tipos de formulaciones pueden presentar.

Límite de Contaminación Microbiana en Plantas Medicinales

Material Crudo	10,000 <i>E. coli</i>
	100,000 propábulos de mohos
Material Pretratado	10, 000,000 bacterias aeróbicas
	1,000 <i>Saccaromycetes</i>
	100 <i>E. coli</i>
	10,000 otras enterobacterias
	no <i>Salmonella</i>
Material para uso interno	100,000 bacterias aeróbicas
	1,000 <i>Saccaromycetes</i>
	10 <i>E. coli</i>
	1,000 otras enterobacterias
	No <i>Salmonella</i>



Limite para producto terminado de origen natural
Conteo bacterias. no > 10 000 ufc/g o 1 ml
Conteo hongo no > 100 ufc/ 1 g o 1 ml
Conteo enterobacterias. no > 100 ufc/ 1 g o 1 ml
Y bacterias. Gram neg.
<i>Salmonella</i> neg. en 10 g o 10 ml
<i>E. coli</i> neg. en 1 g o 1 ml
<i>S. aureus</i> neg. en 1 g o 1 ml