



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León

Facultad de Ciencias Químicas.

Carrera de Farmacia



**Estudio microbiológico de tres medicamentos comercializados ambulatoriamente
en la ciudad de Matagalpa en Enero 2017.**

Monografía para optar al título de: Licenciado Químico – Farmacéutico.

Autores:

Br. Arelis Ivonne Silva Martínez.

Br. Franyi Joharib Vargas Blandón.

Tutora:

MSc. Lissett Aráuz Molina

“A la Libertad por la universidad”

León, Febrero 2017



I. AGRADECIMIENTOS

- El primer agradecimiento queremos hacerlo llegar a los principales impulsores de nuestros sueños, a nuestras familias que sin su apoyo, amor y enseñanzas no estaríamos hoy logrando esta meta.
- A Dios por permitirnos llegar con salud hasta esta etapa de nuestras vidas, por permitirnos tener tan buenas experiencias dentro de la universidad e iluminarnos en el camino de este logro.
- A nuestra tutora MSc. Lisett Arauz Molina por ser nuestra guía y educadora que nos apoyó con toda su voluntad y dedicación incondicional.
- Al departamento de farmacia industrial y el personal del laboratorio de microbiología de nuestra facultad por su apoyo brindado en la realización de nuestro estudio.

¡Gracias a todos!



II. DEDICATORIA

- A Dios por concederme llegar a este momento tan especial en mi vida, por todos los triunfos y momentos difíciles durante este trayecto.
- A la memoria de mi padre Yader Silva que me enseñó que los sueños son posibles de alcanzar, por ofrecerme lo mejor a mí y a mis hermanas, por haber trabajado duro sin importar que llegara cansado del trabajo siempre tenía una sonrisa para nuestra familia, por brindarme la mejor infancia y recuerdos de mi vida y aunque no esté físicamente conmigo siempre lo llevo en mi corazón.
- A la mujer que me ha acompañado durante todo mi trayecto estudiantil y de vida, mi madre Patricia Martínez, por haberme forjado con reglas y con algunas libertades convirtiéndome en la persona que soy en la actualidad y motivarme constantemente para alcanzar mis anhelos.
- A mis hermanas Daniela y Xochilt por estar presentes cuando las he necesitado, ser unas verdaderas amigas y porque me han apoyado en mis decisiones. A mi sobrina Zoe por ser la alegría de la casa y la pequeña con la que mi vida da vueltas.
- A mi novio Franyi que me ha brindado un apoyo incondicional, por creer en mis capacidades, por su amor, comprensión, sus palabras, su tiempo, por sus locuras, detalles y por ser el mejor novio y amigo que se pueda desear.
- A mis amigas (os) quienes comparten sus conocimientos alegrías y tristezas y han estado a mi lado apoyándome y motivándome.

Arelis Ivonne Silva Martínez.



DEDICATORIA

- A Ti Dios Padre Celestial, por la sabiduría y entendimiento que me has regalado para culminar esta etapa de mi vida.
- A la más bella mujer que pueda existir, mi madre María Elsa Blandón, por su apoyo y consejos que me ha brindado en todo momento para que mis sueños se hicieran realidad, por el ejemplo de perseverancia que la caracteriza y por su amor incondicional.
- A mi tutora y amiga MSc. Lisett Arauz Molina, porque sin su ayuda, apoyo y esmero en todo momento, no hubiese podido culminar con este trabajo.
- A mi amigo Rafael Oliveras, más que amigo es como un padre, gracias por su ejemplo de superación, responsabilidad, sus consejos y sobre todo por apoyarme en todo momento.
- A mi novia Arelis, Ella pues, siendo el ingrediente perfecto para poder lograr alcanzar esta dichosa y muy merecida victoria en la vida, te agradezco por tantas ayudas y tantos aportes no solo para el desarrollo de mi tesis, sino también para mi vida; eres mi inspiración y mi motivación.
- A mis profesores, por transmitirme sus conocimientos para ser una persona de bien, a mis compañeros por la amistad, la confianza, apoyo y consejos que me ayudaban en los malos momentos por los cuales pase en el transcurso de mi carrera.
- Y por último sin quitarles importancia, a cada una de las personas que me ayudaron de forma directa o indirectamente para culminar este documento.

Franyi Joharib Vargas Blandón.



INDICE

I.	AGRADECIMIENTOS	II
II.	DEDICATORIA.....	III
III.	INTRODUCCIÓN.....	1
IV.	HIPÓTESIS	5
1.	HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	5
2.	HIPÓTESIS NULA	5
V.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
VI.	OBJETIVOS	7
1.	OBJETIVO GENERAL	7
2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
VII.	MARCO TEÓRICO	8
1.	LIMITE MICROBIANO.....	8
2.	PROCEDIMIENTO.....	8
3.	MÉTODOS DE INCUBACIÓN DE MICROORGANISMOS	9
a.	Método de placa	9
b.	Método de tubos múltiples	10
4.	RECuento TOTAL DE MICROORGANISMOS AEROBIOS, HONGOS Y LEVADURAS.....	10
a.	Recuento total de microorganismos aerobios (RTMA)	10
b.	Recuento total combinado hongos y levaduras (RTCHL)	11
a.	Prueba para <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	11
b.	Prueba de coagulasa (para <i>Staphylococcus aureus</i>).....	11
c.	Prueba de oxidasa y de pigmento.....	12
d.	Prueba para determinar la ausencia de <i>Salmonella spp</i> y <i>Escherichia coli</i>	12
e.	Prueba para determinar <i>Salmonella spp</i>	12
f.	Prueba para determinar <i>Escherichia coli</i>	14
6.	MICROORGANISMOS.....	14
a.	<i>Escherichia coli</i>	14
b.	<i>Salmonella spp</i>	15
c.	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	15
d.	<i>Staphylococcus aureus</i>	16
e.	<i>Shigella</i>	17
7.	MEDIOS DE CULTIVOS.....	18
a.	Agar EMB (eosina, azul de metileno, agar de Levine)	18
b.	Agar Sabraud Dextrosa	18
c.	Agar MacConkey	18
d.	Agar SS (<i>Salmonella-Shigella</i>)	19
e.	Agar Triptica-Soja (TSA)	19
f.	Agar Verde Brillante	19
g.	Agar XLD (xilosa, lisina, Desoxicolato).....	19
h.	Caldo Selenito	20
8.	PRUEBAS BIOQUÍMICAS	20
a.	Producción de indol.....	20
b.	Agar Triple Azucares y Hierro (TSI)	20
c.	Prueba de Oxidasa.....	20



d.	Prueba de Coagulasa	21
9.	CONDICIONES GENERALES DEL ETIQUETADO DE MEDICAMENTOS DE USO HUMANO.....	21
a.	El etiquetado de los medicamentos según su forma farmacéutica.....	22
b.	Etiquetado del envase/ empaque primario	22
c.	Etiquetado del envase/ empaque secundario.....	22
VIII.	MATERIAL Y MÉTODO	24
1.	TIPO DE ESTUDIO	24
2.	ÁREA DE ESTUDIO	24
3.	POBLACIÓN	24
4.	MUESTRA	24
6.	TIPO DE MUESTREO.....	24
7.	CRITERIO DE INCLUSIÓN	24
8.	CRITERIO DE EXCLUSIÓN	25
9.	VARIABLES.....	25
10.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	25
11.	PROCEDIMIENTO.....	26
a.	Procedimiento para RTMA y RTCHL.....	26
b.	Procedimiento para la determinación de microorganismos específicos	27
c.	Procedimiento para la confirmación de Salmonella, solo para la muestra 3 utilizando agar XLD	29
d.	Método e instrumentos de recolección de datos	29
e.	Procesamiento y análisis de datos	29
IX.	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	30
X.	CONCLUSIÓN.....	38
XI.	RECOMENDACIONES	39
XII.	BIBLIOGRAFIA	40
XIII.	ANEXOS	42



III. INTRODUCCIÓN

Los microorganismos se pueden encontrar en el medio ambiente, como en el aire, alimentos, agua. Algunos microorganismos residen en el cuerpo en números considerables. Es evidente por tanto que en los materiales no procesados, materia prima, medicamentos acabados contendrán microorganismos, salvo que se adopten medidas específicas para impedirlo.

Existen dos estrategias principales para la preparación de productos de calidad desde el punto de vista microbiológico: Reducir al mínimo el posible acceso de los microorganismos y formular el producto final de forma que sea hostil a los microorganismos lo que habitualmente se consigue agregando conservantes.

Hay factores que intervienen en la fabricación higiénica de un medicamento, fitofármaco u otros productos. Estos factores pueden ser la fuente y la incidencia de contaminación.

Dentro de la industria farmacéutica existe una gran variedad de sustancias medicinales cuya finalidad es mantener o restablecer la salud del hombre. La garantía de calidad reviste una importancia especial, y esta fabricación debe seguir estrictamente métodos de preparación y procedimientos establecidos validados cuidadosamente. Por estas y otras razones, se hace indispensable el control de calidad que asegure que los productos cumplan satisfactoriamente los requerimientos microbiológicos, farmacológicos y terapéuticos.

Los ensayos de control sobre la contaminación microbiana deben entenderse tanto de forma cuantitativa como cualitativa. Según estos, en los medicamentos no debe haber agentes de enfermedades (especies patógenas) y el contenido de saprofitos no debe de sobrepasar los valores límites definidos para evitar variaciones de un medicamento en cuanto a su aspecto, sabor, olor, estabilidad, consistencia, descomposición, intolerancia, disminución de actividad y otros.

Los medicamentos no obligatoriamente estériles son susceptibles a la contaminación de microorganismo tales como bacterias, mohos y levaduras tanto en el proceso de manufactura como durante su comercialización y uso. La contaminación de los productos farmacéuticos, por microorganismos patógenos puede ocasionar infecciones o enfermedades que afecten al paciente o consumidor.



La oportunidad que tiene un ciudadano de acceder a la compra de medicamentos de venta libre para aliviar una dolencia, que no requiere de una visita médica ni asistir a un establecimiento de salud, es amplia ya que se comercializan en buses, calles, mercados. Estos medicamentos muchas veces no cuentan con registros sanitarios, y no son elaborados por laboratorios certificados que cumplan con las Buenas Prácticas de Manufactura.

Es por ello, que las materias primas, los productos farmacéuticos terminados y los productos que se comercializan, deben ser sometidos a un análisis microbiológico que demuestre que cumple con las especificaciones establecidas por los organismos oficiales, para garantizar que los productos sean adecuados para el uso al que están destinados.

Hay un sin número de estudios en los que se hace referencia a la calidad microbiológica, entre ellos tenemos:

1. En marzo 2004 un estudio realizado en la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN-LEON por las Br. Nadia Rene Arguello Gallo y Br. Yessenia María Martínez Ulloa, con el tema “ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE FITOFARMACOS NO OBLIGATORIAMENTE ESTERILES ELABORADOS POR EL LABORATORIO ECOLIFE”. Se analizaron ocho muestras las cuales son Apazote-life, Tintura de Orégano, Ovaril, Extracto de Sen de Alejandría, Jengibre, Carao-life, Guayaba y Fat- Reductor. Siete de estos cumplen con las especificaciones establecidas para fitofármacos en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos, que fueron conteo total de bacterias aerobias mesófilas, recuentos de hongos filamentosos y levadura e identificación de microorganismos patógenos; siendo el extracto de Sen de Alejandría el producto que no cumplió con estas especificaciones, ya que se encontró por encima de los valores establecidos en cuanto al recuento de bacterias aerobias mesófilas. Los productos manufacturados por este laboratorio son seguros ya que solamente uno de los 8 que se analizaron no cumplió con los parámetros establecidos.
2. En enero 2007. Fue realizado un estudio de límite microbiano por los Br. Lidia del Carmen Bolaños López, Br. Junnieth Esperanza Bolaños López. y Br. Byron Efraín López Peralta; con el tema “DETERMINACIÓN DEL LÍMITE MICROBIANO AL JARABE DE CARAO (CASSIA GRANDIS L.) CON MAYOR DEMANDA POR LA POBLACIÓN, COMERCIALIZADO EN



CENTRO NATURISTA DE LA CIUDAD DE LEÓN. ENERO 2007”. Previo a la realización del análisis del límite microbiano a las muestras de jarabe de carao (*Cassia grandis L.*). Se detectó la ausencia de agente conservador lo que permitió llevar a cabo el ensayo y emitir las siguientes conclusiones. En la muestra analizada no se encontró la presencia de bacterias aerobias mesófilas además hay ausencia de bacterias patógenas (*Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*). El fitofármaco analizado en este estudio no presenta hongos y levaduras. Por tanto, el jarabe de carao (*Cassia grandis L.*) analizado en el estudio cumple con las especificaciones establecidas en la Farmacopea USP 29.

3. Un estudio realizado en Julio-Agosto del 2011, por los Br. Ronier Lenin Hernández Rueda y Br. Skarleth Lucia Merlos Carrero de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN-LEON con el tema “DETERMINACION DEL LIMITE MICROBIANO DE JARABES DE GUAYABA (*Psidium spp.*) COMERCIALIZADOS EN LA CIUDAD DE LEON JULIO- AGOSTO DE 2011”. Se obtuvieron como resultados que la cantidad de microorganismo aerobios viables encontrados en las muestras de jarabe de guayaba cumple con las especificaciones OMS y el RTCA de productos naturales de uso humano por estar dentro de los límites permitidos. La ausencia de *Escherichia coli*, *Salmonella Spp*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium spp*, *Shigella spp* en la muestra de jarabe de guayaba cumple con las especificaciones de la OMS. Por tanto se demuestra que los jarabes de guayaba (*Psidium spp.*) comercializado en la ciudad de León en el periodo Julio-Agosto del 2011 cumple con los límites microbiológicos establecidos por la OMS y el RTCA de productos naturales de uso humano, el cumplimiento de las normas establecidas demuestra que el fitofármaco es seguro para ser consumido, de manera que este no le provocara daño por contaminación microbiana al paciente.
4. El estudio más reciente encontrado en el período Enero-Abril de 2012. Realizada en la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN-LEON por los Br. Eliane Paola Arguello Ramírez, Br. Rafaela Margarita Arteaga Ruiz; con el tema “CALIDAD MICROBIOLOGICA DE MEDICAMENTOS NO OBLIGATORIAMENTE ESTERILES COMERCIALIZADOS EN LAS CANASTAS DE LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE LEON ENERO – ABRIL 2012”. Finalizado el ensayo de límite microbiano a cada una de las muestra seleccionadas se logró



llegar a la conclusión que los medicamentos más comercializados en las canastas de los mercados (Neurobión inyectable 25000 U, Diazepam tableta 5mg, Acetaminofén jarabe 120mg/5 ml, Ambroxol Jarabe 15mg /5ml, Verapamilo tableta 80 mg, Captopril tableta 25 mg) no cumplen con las medidas de calidad pertinentes, entre las cuales encontramos: el almacenamiento, exposición a la luz solar, el empaque, humedad y el manejo propio que se le da a estos fármacos por lo tanto estos medicamentos no cumplen con todas las características o requisitos establecidos por las farmacopeas, sobre todo lo relacionado a su calidad microbiológica y no deben ser adquiridos por los consumidores ya que provocarían un mayor daño a la salud.

En Nicaragua existen leyes y decretos, relacionados a la venta libre de medicamentos en las que tenemos:

1. **Ley de medicamentos y farmacia, Ley No. 292 en su artículo 8** “El Ministerio de salud elabora las listas de los productos de venta libre”.
2. **Decreto No. 6-99, Reglamento de la ley No. 292, Ley de medicamentos y farmacia.** El reglamento de la ley de medicamentos y farmacias amplía en los Artos. 49, 62 y 78, las disposiciones sobre medicamentos de venta libre.
 - a. **Artículo 49.-** Los puestos de venta de medicamentos, están facultados para vender productos populares y será necesario que el responsable del establecimiento realice un curso básico de almacenamiento y expendio de medicamentos. Los productos populares se podrán comercializar en pulperías, misceláneas, supermercados, gasolineras y en cualquier tipo de comercio, a excepción de los canastos de los mercados y las ventas ambulantes, las que no podrán comercializar ningún tipo de medicamento.

Debido que hasta el momento no se dispone de información de estudios dirigidos a realizar controles microbiológicos a medicamentos comercializados en los mercados, o a nivel ambulatorio, es por esa razón, que en nuestro estudio queremos verificar la calidad microbiológica de tres medicamentos que mayormente se comercializan en los mercados de la ciudad de Matagalpa, porque como farmacéuticos debemos asegurarnos que el medicamento que llega a la población es seguro, y que no vaya a enfermar a la población que lo consume.



IV. HIPÓTESIS

1. Hipótesis de investigación

Los medicamentos comercializados ambulatoriamente cuentan con calidad microbiológica aceptable.

2. Hipótesis nula

Los medicamentos comercializados ambulatoriamente no cuentan con calidad microbiológica aceptable.



V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es notable aceptar que en diferentes departamentos, en los buses interurbanos y calles se comercializan medicamentos de manera ambulatoria los cuales son comprados por personas de bajos ingresos económicos por su fácil acceso y bajo costo, en Matagalpa esta situación no difiere con otros departamentos del país, estos medicamentos por lo general no cuentan con registro sanitario y no hay certificación de su calidad, lo que puede poner en riesgo la salud de la población.

¿Cuál es la calidad microbiológica de los medicamentos comercializados ambulatoriamente en la ciudad de Matagalpa, enero 2017?



VI. OBJETIVOS

1. Objetivo General

- Determinar la calidad microbiológica en tres medicamentos ambulatorios comercializados en la ciudad de Matagalpa. Enero 2017.

2. Objetivos Específicos

- Cuantificar la presencia de bacterias aerobias mesófilas en los medicamentos en estudio.
- Cuantificar la presencia de hongos y levaduras en las muestras en estudio.
- Identificar la presencia de bacterias patógenas: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella spp.* en medicamentos.
- Verificar si la etiqueta contiene los datos completos.



VII. MARCO TEÓRICO

1. Limite Microbiano

Es un conjunto de pruebas utilizadas para estimar el número de microorganismos aerobios viables presentes y para determinar la ausencia de especies microbianas designadas en artículos farmacéuticos de todo tipo, desde materias primas hasta productos finales. Pueden utilizarse otros métodos automatizados en lugar de las pruebas que se presentaran posteriormente, siempre y cuando se hayan validado debidamente, comprobando que sus resultados son equivalentes o superiores.

Recomendaciones Generales:

- Durante la preparación y realización de las pruebas, deben tomarse las precauciones asépticas necesarias para la manipulación de las muestras.
- A menos que se indique algo diferente, cuando el procedimiento indique solamente incubar, mantener el envase en el aire que este termostáticamente controlado a una temperatura entre 30°C y 35°C, durante un periodo de 24 a 48 horas.
- El tiempo transcurrido desde la preparación de la primera dilución, hasta su incorporación con el medio de cultivo no debe exceder una hora.
- El termino crecimiento se usa aquí con un sentido especial, es decir, para designar la presencia y supuesta proliferación de microorganismos viables.

2. Procedimiento

Preparar las muestras que se desea analizar con un tratamiento apropiado a sus características físicas y que no altere el número y tipo de microorganismos presentes originalmente, a fin de obtener una solución o suspensión de la totalidad o parte de la muestra que sea adecuada para el o los procedimientos de prueba que se pueden llevar a cabo.

En el caso de los sólidos que se disuelven en gran medida pero no totalmente, reducir la sustancia a un polvo moderadamente fino, suspenderlo en el vehículo especificado y proceder como se indica en el recuento total de microorganismos aerobios y en prueba para determinar la ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* y prueba para determinar la ausencia de *Salmonella spp* y *Escherichia coli*.

En el caso de las muestras líquidas que consiste en una solución verdadera o una suspensión en agua o un vehículo hidroalcohólico que contenga menos de 30% de alcohol



y para aquellos sólidos de disolución fácil y casi total en 90 ml de solución amortiguadora de fosfato de pH 7.2 o en los medios especificados, proceder según se indica en recuento total de microorganismos aerobios y en prueba para determinar la ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* y prueba para determinar la ausencia de *Salmonella spp* y *Escherichia coli*.

En el caso de ceras, cremas, ungüentos y líquidos inmiscibles con agua, preparar una suspensión con ayuda de una cantidad mínima de un agente emulsionante estéril adecuado (por ejemplo, uno de los Polisorbato), utilizando un mezclador mecánico y calentando a una temperatura que no exceda de 45°C, si fuera necesario, y proceder con la suspensión según se indica en el recuento total de microorganismos aerobios y en prueba para determinar la ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* y prueba para determinar la ausencia de *Salmonella spp* y *Escherichia coli*.

Para una muestra líquida en forma de aerosol, enfriar el envase en una mezcla de alcohol y hielo seco durante aproximadamente una hora, abrir el envase, dejar que alcance temperatura ambiente, dejar que el propelente escape, o entibiar para expulsar el propelente si fuera factible, y transferir la cantidad de material de prueba requerida para los procedimientos especificados en uno de los dos párrafos precedentes, según corresponda. Cuando no se pueda obtener 10,0 gramos o 10,0 ml de la muestra, según corresponda, de 10 envases en forma de aerosol, transferir la totalidad del contenido de 10 envases enfriados al medio de cultivo, dejar que el propelente se escape y proceder a realizar la prueba a los residuos. Si los resultados de la prueba no fueran concluyentes o fueran dudosos, repetir la prueba con una muestra de 20 envases más.

3. Métodos de incubación de microorganismos

a. Método de placa

Diluir el líquido aún más, si fuera necesario, para que 1 ml permita obtener entre 30 y 300 colonias. Pipetear 1 ml de la dilución final y transferir a dos cajas petri estériles. Agregar de inmediato, a cada placa, de 15 a 20 ml de medio agar digerido de caseína-soja, previamente fundido y enfriado aproximadamente a 45°C. Cubrir las placas de Petri, mezclar las muestras con agar inclinado ligeramente o rotando suavemente las placas y dejar que el contenido se solidifique a temperatura ambiente. Invertir las placas de Petri e incubar durante 48 a 72 horas a una temperatura de 30°C ± 2 °C.



Una vez finalizada la incubación, examinar las placas para verificar el crecimiento de microorganismos, contar el número de colonias y expresar el promedio de las dos placas en termino de numero de microorganismos por gramo o por ml de muestra. En caso de no recuperarse colonias microbianas de las placas que representen la dilución inicial 1:10 de la muestra, expresar los resultados como menos de 10 microorganismos por gramo o por ml de la muestra.

b. Método de tubos múltiples

En cada uno de los 14 tubos de ensayo de tamaño similar, colocar 9.0 ml de medio liquido de digerido de caseína soja. Distribuir 12 de los tubos en cuatro grupos de tres tubos cada uno. Separar un grupo de tres tubos para utilizarlo como control. Pipetear 1 ml de la solución o suspensión de la muestra y transferir a cada uno de los tres tubos de un grupo (“100”) y a un cuarto tubo (A), mezclar. Pipetear 1 ml del tubo A y transferir al tubo restante (B), no incluido en un grupo, y mezclar. Estos dos tubos contienen 100 mg (o 100µL) y 10 mg (o 10µL) de la muestra, respectivamente. Pipetear 1 ml del tubo A y transferir a cada uno de los tres tubos del segundo grupo (“10”) y pipetear 1 ml del tubo B y transferir a cada tubo del tercer grupo (“1”). Desechar el contenido no utilizado de los tubos A y B. Cerrar bien e incubar todos los tubos. Una vez transcurrido el periodo de incubación, examinar los tubos para verificar el crecimiento de los microorganismos: Los tres tubos de control se mantienen transparente y los resultados observados en los tubos que contienen la muestra, interpretados según la tabla 1, indican el número más probable de microorganismos por gramo o por ml de muestra.

4. Recuento Total de Microorganismos Aerobios, Hongos y Levaduras

a. Recuento total de microorganismos aerobios (RTMA)

En el caso de muestras que son lo suficientemente solubles o traslucidas para permitir el uso del método en placa, usar dicho método; de lo contrario, usar el método en tubos múltiples. Con cualquiera de los métodos, primero disolver o suspender 10,0 gramos de la muestra si es sólida o 10 ml, medidos con exactitud, si la muestra es líquida, en solución amortiguadora de fosfato de pH 7.2, medio liquido digerido Caseína-soja o medio liquido digerido de Caseína-Lecitina de Soja-Polisorbato 20 para obtener 100 ml. En el caso de muestras viscosas que no se puedan pipetear ni transferir a esta dilución inicial de 1:10, diluir la muestra para obtener una suspensión, es decir, 1:50 ó 1:100, etc., que pueda pipetearse. Agregar la muestra al medio a más tardar una hora después de preparar las diluciones apropiadas para la inoculación.



b. Recuento total combinado hongos y levaduras (RTCHL)

Proceder como se indica en el método en placa, en recuento total de microorganismos aerobio, excepto que se debe utilizar en las placas, Medio Agar Saboraud Dextrosa o medio Agar Papa Dextrosa, en lugar de medio de Digerido de Caseína-Soja y se deben incubar en las placas de Petri invertidas durante 72 horas hasta un máximo de 5 días a una temperatura de 20°C a 25°C.

5. Determinación de Microorganismos Específicos

a. Prueba para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*

Agregar 10 ml de la solución madre de la muestra al Medio Liquido de Digerido de Caseína-Soja para obtener 100 ml, mezclar e incubar a 35-37°C por 24-48 horas. Examinar el medio para verificar evidencia de crecimiento microbiano, si hubiera crecimiento utilizar un asa de inoculación estéril para realizar estrías con una porción del medio sobre la superficie del Medio Agar de Vogel- Jonson o Medio Agar de Baird Parker o Medio Manitol-Agar Salado para *Staphylococcus aureus* y del Medio Agar Cetrimide para *Pseudomona aeruginosa* cada uno de ellos colocado en placas Petri. Cubrir las placas, invertidas e incubar de 35-37°C por un período de 24 horas.

Si al examinarlas, ninguna de las placas contiene colonias características para los medio utilizados, la muestra de prueba cumple con los requisitos de ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*. Si en los agares para *Staphylococcus aureus* se observan colonias características, se realiza la prueba de coagulasa.

b. Prueba de coagulasa (para *Staphylococcus aureus*)

Con la ayuda de un asa de inoculación, transferir colonias sospechosas representativas desde la superficie de agar del Medio Agar de Vogel-Johnson (o Medio Agar de Baird Parker o Medio Manitol Agar Salado) a tubos individuales, que contengan cada uno 0.5 ml de plasma de mamífero, preferentemente de conejo o caballo, con o sin aditivos adecuados. Incubar en un baño de agua a 37°C, examinando los tubos a las 3 horas y posteriormente a intervalos adecuados hasta 24 horas. Analizar los controles positivos y negativos simultáneamente con las muestras desconocidas. Si no se observa ningún grado de coagulación, la muestra cumple con los requisitos para confirmar la ausencia de *Staphylococcus aureus*. Si es notable algún grado de coagulación la prueba es positiva y el producto tiene *Staphylococcus aureus*.



c. Prueba de oxidasa y de pigmento

Con la ayuda de un Asa de inoculación, realizar estrías de las colonias sospechosas representativas, tomadas de la superficie del Medio Agar Cetrímide, sobre las superficies del Agar del medio *Pseudomonas*, agar para la detección de fluorescencias y del Medio *Pseudomonas* agar para la detección de Píocianina contenidas en las placas Petri.

Si debe transferirse un número grande de colonias sospechosas, dividir la superficie de cada placa en cuadrantes inocular cada uno con una colonia diferente. Cubrir las placas, invertir el medio inoculado e incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante no menos de 3 días. Examinar las superficies estriadas bajo la luz UV. Examinar las placas para determinar si hay colonias presentes con las características del microorganismo.

Por medio de la prueba de oxidasa, confirmar si un crecimiento de colonias sospechosas en uno o más medios corresponde a *Pseudomona aeruginosa*. Una vez que haya tenido lugar el crecimiento de colonias, colocar o transferir las colonias a tiras o disco de papel de filtro que se han impregnado previamente con diclorhidrato de N N-dimetil-p-fenilendiamina: si no aparece un color rosado, que se torna purpura, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de *Pseudomona aeruginosa* se puede confirmar mediante otras pruebas bioquímicas y de cultivos adecuadas, si fuera necesario.

d. Prueba para determinar la ausencia de *Salmonella spp* y *Escherichia coli*

Agregar 10 ml de la muestra contenida en la solución madre al Medio Agar Digerido de Caseína Soja para obtener 100 ml e incubarla de $35-37^{\circ}\text{C}$ por un período de 24 a 48 horas. Examinar el medio para verificar el crecimiento, si no hay crecimiento microbiano en el medio de cultivo, se concluye que hay ausencia de *E. coli* y *Salmonella spp*. Si hubiera evidencia de crecimiento microbiano, mezclar agitando suavemente y confirmar la presencia de bacterias antes mencionadas.

e. Prueba para determinar *Salmonella spp*

Pipetear porciones de 1 ml y transferir a tubos que contengan, respectivamente, 10 ml de Medio Líquido de Selenito- Cistina y Medio Líquido de Tetrionato, mezclar e incubar durante 12-24 horas (conservar el remanente del Agar Digerido de Caseína Soja).

Por medio de un asa de inoculación, transferir muestras de los Medios de Selenito- Cistina y de Tetrionato sobre la superficie del Medio Agar Verde Brillante, del Medio Agar con Xilosa-Lisina-Desoxicolato y del Medio Agar con Sulfito de Bismuto contenidos en



placas petri. Cubrir las placas, invertirlas e incubar. Al examinar las placas, si ninguna de las colonias se ajusta a la descripción del microorganismo, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia del genero *Salmonella*.

TABLA N° 1

Colonias típicas de <i>Salmonella spp.</i> En medios sólidos selectivos.		
Medio selectivo	Color antes de la inoculación	Características coloniales de <i>Salmonella spp.</i>
Agar Verde Brillante (VB)	Oscuro, color marrón	Rosas o rojas pueden ser transparentes, rodeadas de medio enrojecido. Las bacterias fermentadoras de lactosa son amarillas
Agar Sulfito Bismuto (SB)	Opaco, verde pálido	Café, grises o negras; con o sin brillo metálico. Algunas veces presencia de halo café o negro.
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)	Claro, color rojo brillante	Rosas o rojas pueden ser transparentes, con o sin centro negro. En algunos casos completamente negras

Si se encuentran colonias de bastones gram negativos que se ajusta a las descripción del microorganismo según la tabla de identificación de colonias típicas de *Salmonella spp.*, proceder con una identificación adicional transfiriendo colonias sospechosas representativas individualmente, por medio de un asa de inoculación, a un tubo inclinado de Medio Agar- Triple- Azúcar- Hierro estriando primero la superficie inclinada y luego introducir el asa por debajo de la superficie. Incubar. Si en el examen no se hallan indicios de que los tubos presentan líneas oblicuas alcalinas (rojas) y extremos ácidos (amarillos), (con o sin ennegrecimiento concomitante de los extremos por producción de Sulfuro de Hidrogeno), la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia del genero *Salmonella*.



f. Prueba para determinar *Escherichia coli*

Con ayuda de un asa de inoculación, hacer estrías con una porción del Medio Digerido de Caseína Soja restante sobre la superficie del Medio Agar MacConkey. Cubrir las placas, invertirlas e incubar. Al examinar las placas, si ninguna de las colonias se torna a color característico rosa-chica del microorganismo en este medio, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de *Escherichia coli*.

Si se encuentran colonias de pigmentación rosa-chica proceder con una identificación adicional, transfiriendo las colonias sospechosas individualmente, por medio de un asa de inoculación, a la superficie del Medio de Agar de Levine con Eosina-Azul de Metileno (EMB). Cubrir las placas, invertirlas e incubar. Al examinar si ninguna de las colonias exhibe un brillo metálico característico bajo luz reflejada y si ninguna de ellas presenta una apariencia negro azulada bajo la luz transmitida, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de *Escherichia coli*. La presencia de *Escherichia coli* se puede confirmar mediante otras pruebas adicionales bioquímicas y de cultivos adecuadas, si fuera necesario (IMVIC).

Repetición de la prueba.

A fin de confirmar un resultado dudoso mediante cualquiera de los procedimientos descritos en las pruebas anteriores después de su aplicación a una muestra de 10,0 gramos, puede realizarse una nueva prueba en una muestra de 25 gramos de producto. Proceder como se indica en el procedimiento teniendo en cuenta que la muestra es más grande.

6. Microorganismos

a. *Escherichia coli*

Forma parte de la familia Enterobacteriaceae a la cual pertenecen otros patógenos importantes como *Shigellas* y *Salmonella*. Son bacilos gram- negativo, no esporulados, la mayoría móviles aunque también puede haber variantes no móviles. Crecen en medios de cultivos simples de peptona o extracto de carne sin ningún suplemento, o medios selectivos como el Agar MacConkey, las colonias presentan coloración rosa chica y pueden estar rodeadas por una zona de bilis precipitada.

Son anaerobios facultativos, fermentan la glucosa con producción de ácido o ácido y gas, son catalasa positiva y oxidasa negativo y reducen los nitratos a nitritos. Forman parte de



la microbiota intestinal normal de humanos, animales y se aíslan del medio ambiente. Algunas cepas de *Escherichia coli* son patógenas para el hombre y los animales.

b. *Salmonella spp*

El género *Salmonella spp* pertenece a las enterobacterias y como tales son bacilos gram-negativos que fermentan la glucosa, no fermentan la lactosa ni la sacarosa, son anaerobias facultativas, la mayoría móviles con flagelos peritricos, no producen indol y suelen producir sulfuro de hidrógeno. Son bacterias de crecimiento rápido, crecen en medios diferenciales como MacConkey y en los altamente selectivos como agar *Salmonella*, *Shigella*, así como en medios altamente inhibidores como Selenito.

La principal forma de transmisión es a través de los alimentos. De las formas clínicas, las más comunes son la fiebre tifoidea y paratifoidea producida por *Salmonella typhi* y *paratyphi A*. De las asociadas a infección del torrente sanguíneo, uno de los serotipos más comunes es *Salmonella choleraesuis*. Sin embargo, la forma clínica más frecuente es la diarrea asociada a más de 1,500 serotipos. Estos procesos requieren manejo terapéutico distinto por tener morbi-mortalidad distinta.

c. *Pseudomona aeruginosa*

El género *Pseudomona* está constituido por bacilos gram- negativos aerobios que no forman esporas y son rectos o ligeramente curvos, miden de 1.5 a 5 mm de largo y 0.5 a 1.0 mm de ancho.

Las *Pseudomona spp* son móviles debido a la presencia de uno o más flagelos polares. Los aislamientos obtenidos de muestras clínicas son oxidasa y catalasa positiva y crecen en Agar MacConkey como UFC no fermentadoras de lactosa. La mayoría de las especies degradan la glucosa oxidativamente y reducen nitratos a gas nitrógeno.

Las colonias son usualmente extendidas y planas, tiene bordes irregulares y un brillo metálico característico, el cual es frecuente asociado con la autólisis de las colonias.

Existen otras variantes de colonias incluyendo formas lisas, gelatinosas y mucoides la *Pseudomona aeruginosa* produce varios pigmentos solubles en agua, como el pigmento verde amarillento fluorescente llamado pioverdina (también producida por *P. fluorescens* y *P. putida*). Cuando la pioverdina se combina con un pigmento azul hidrosoluble, pigmento fenazina, se produce piocianina, un color turquesa-verde brillante característico



de *P. aeruginosa*. Unas pocas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* pueden producir pigmentos de otros colores como piorubrina (rojo) o piemelanina (marrón o negro).

La *Pseudomonas aeruginosa* puede ser identificada sobre la base de la prueba oxidasa, TSI, crecimiento a 42°C y producción de pigmentos ya sea fluorescente, azul verde, rojo o café en Agar Mueller Hinton.

Algunas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* producen solo pioverdina (verde amarillo fluorescente) característica que comparte con *P. fluorescens* y *P. putida* pero la habilidad de *P. aeruginosa* de crecer a 42°C la distingue de las otras dos especies; *P. fluorescens* puede ser diferenciada de *P. putida* basándose en su habilidad de degradar la gelatina.

d. *Staphylococcus aureus*

Los *Staphylococcus* son células esféricas de alrededor de 1 mm de diámetro, gram positivas generalmente agrupadas en racimos. En cultivos líquidos se observan además cocos aislados, en pares, tétradas y cadenas. Son microorganismos no móviles y no forman esporas.

Los *Staphylococcus* crecen con facilidad en la mayor parte de los medios de cultivos y son activos desde el punto de vista metabólico, fermentan muchos carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta el amarillo intenso bajo condiciones aerobias o microaerófilas. Crecen con mayor rapidez a 37°C, pero forman mejor el pigmento a temperatura entre los 20°C – 25°C. Las colonias desarrolladas en medios sólidos son redondas, lisas, elevadas y resplandecientes. *S. aureus* forma colonias de color gris a amarillo dorado intenso. Las colonias de *S. epidermis* tienen tonos de grises a blancas.

Los *Staphylococcus* producen catalasa, lo que los distingue de los *Streptococcus*. Los *Staphylococcus* patógenos generalmente son hemolíticos y coagulan el plasma. Algunos son miembros de la microbiota normal de la piel y mucosas de los humanos, en tanto que otros producen supuración, formación de abscesos, diversas infecciones piógenas e incluso septicemia mortal. Un tipo común de envenenamiento por alimentos es causado por una enterotoxina termoestable producida por algunas cepas de *Staphylococcus*.

El género *Staphylococcus* tiene por lo menos 20 especies, el *Staphylococcus aureus* es un microorganismo patógeno de gran importancia para el ser humano por ser el causante de muchas infecciones graves.



Entre el 20 al 40% de los adultos suelen portarlo en las narinas, también se le encuentra en otros sitios como pliegues cutáneos, periné, axilas y vagina. Aunque este microorganismo suele formar parte de la microbiota humana normal, puede producir infecciones oportunistas en huéspedes susceptibles. Los *Staphylococcus* coagulasa negativos también constituyen 1 parte de la microbiota humana normal.

Staphylococcus epidermidis es el microorganismo recuperado con mayor frecuencia, entre el 50% y 80% de los aislamientos de esta especie se incluyen, endocarditis originada en válvulas cardiacas naturales y protésicas, infecciones producidas por catéteres intravenosos, infecciones de sistemas para derivaciones del LCR, peritonitis asociada con catéteres para diálisis peritoneal, bacteriemia, osteomielitis, infecciones de heridas, infecciones de injertos vasculares, infecciones de prótesis articulares e infecciones de las vías urinarias. *Staphylococcus saprophyticus* es la segunda causa de infección del tracto urinario en mujeres jóvenes embarazadas.

e. *Shigella*

El género *Shigella* pertenece a la tribu *Scherichiae* de la familia *Enterobacteriaceae* y como tales son bacilos gram negativos que fermentan la glucosa, no fermentan la lactosa excepto *Shigella sonnei* que lo hace lentamente; son anaerobios facultativos no esporulados, no presentan cápsula y son inmóviles ya que no poseen flagelos. Son bacterias de crecimiento rápido en medios de baja selectividad como Agar MacConkey y en medios altamente selectivos como Agar Salmonella, Shigella, excepto algunas cepas de *Shigella dysenteriae* serotipo I que pueden ser inhibidas en su crecimiento. Proliferan bien en medios de enriquecimiento altamente inhibidores como selenito.

El género *Shigella* está constituido por cuatro especies *dysenteriae* (sero grupo A), *flexneri* (serogrupo B), *boydii* (serogrupo C) y *sonnei* (serogrupo D). Dentro de la especie *dysenteriae*, se agrupan 13 serotipos del 1 al 13, con mayor importancia clínica el serotipo I causante de disentería bacilar. Esta especie tiene la particularidad de no fermentar el manitol y además:

- Ausencia de catalasa, contraria a las demás Enterobacterias.
- Posee una enzima β -galactosidasa muy activa (prueba de ONPG rápidamente positiva, en menos de una hora).

Shigella dysenteriae 6 a diferentes de *S. dysenteriae* I es OPNG lenta (18 horas). Dentro de la especie *flexneri* se agrupan 6 serotipos del 1 al 6. Así mismo dentro de los serotipos



2 y 3 se agrupan subtipos a y b que son variaciones menores ligadas a conversión bacteriofàgica (se refiere a fagos, cierto tipo de virus que infectan bacterias y que son útiles para clasificarlas) realizada solo en laboratorios especializados.

El serotipo de *Shigella flexneri* 6 posee variedades bioquímicas que producen poco gas a partir de la glucosa en el sitio de inoculación del agar inclinado Triple Sugar Agar o Kligler Iron Agar. Estas variedades son: *Boyd 88*, *Manchester* y *Newcastle*.

7. Medios de cultivos

a. Agar EMB (eosina, azul de metileno, agar de Levine)

Es un medio diferencial y selectivo para aislar y detectar enterobacterias en muestras mixtas. Los colorantes de anilina (eosina, azul de metileno) inhiben el desarrollo de bacterias Gram negativas y Gram positivas exigentes. También se combinan precipitando a pH ácido, actuando como indicadores de producción de ácidos. El medio incluye lactosa, lo que permite la diferenciación de los fomentadores de lactosa, sobre todo *Escherichia coli*, producen colonias de color negro verdoso con brillo metálico. Los productores más débiles de ácidos forman colonias de color violeta. Los fomentadores de lactosa forman colonias transparentes.

b. Agar Saboraud Dextrosa

Este medio desarrollado es un no selectivo para el cultivo y mantenimiento de hongos patógenos y no patógenos, especialmente de los productores de micosis superficiales. En la actualidad se recomienda solo para el aislamiento primario de dermatofitos, se logra selectividad mediante la adición de cloranfenicol. El pH final (alrededor de 5,6) es mucho menor que en la mayoría de los medios y tiende a eliminar el crecimiento bacteriano. Los subcultivo de los hongos aislados originalmente en BHI pueden presentar una morfología más uniforme en agar glucosa de Saboraud por esto es útil para la identificación de hongos una vez aislados.

c. Agar MacConkey

Es un medio selectivo y diferencial utilizado para la recuperación de Enterobacterias y bacilos Gram negativos entéricos relacionados. Contiene sales biliares y cristal violeta que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas y de algunas Gram negativas exigentes. La lactosa es la única fuente de carbono. El indicador es el rojo neutro. Las bacterias fermentadoras de lactosa forman colonias de diferentes tonos de rojo. Los



fermentadores fuertes de lactosa pueden provocar la precipitación de las sales biliares por la gran cantidad de ácidos formados, lo que se observa fácilmente en el medio por la aparición de zonas opacas alrededor de las colonias. Las bacterias que no fermentan la lactosa forman colonias incoloras o transparentes.

d. Agar SS (*Salmonella-Shigella*)

Lleva sales biliares, citrato sódico y férrico, tiosulfato y el colorante verde brillantes. El carácter diferencial se basa en la fermentación de la lactosa. Incorpora rojo neutro. Las colonias lactosa positivas son de color rojo, mientras que las lactosa negativas son transparentes (*Shigella*). Las colonias de *Salmonella* son transparentes con el centro negro.

e. Agar Triptica-Soja (TSA)

Medio rico de uso general para el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos se produce por digestión enzimática de la soja y de la caseína. Con frecuencia se utiliza como agar base para otros tipos de medios, como agar sangre, por ejemplo en este medio pueden crecer algunos microorganismos exigentes como ciertas especies de *Brucella*, *Corinebacterium*, *Listeria*, *Neisseria* y *Vibrio*.

f. Agar Verde Brillante

Medio totalmente selectivo para el aislamiento de especies de *Salmonella* excepto *S. typhi* y *S. paratyphi*. No se recomienda para el aislamiento de *Shigella*. Incluye lactosa, sacarosa y rojo fenol. El verde brillante es el agente inhibidor. Las colonias de *Salmonella* se ven de color rosa o blanco, o transparente, sobre un fondo rojo.

g. Agar XLD (xilosa, lisina, Desoxicolato)

Este medio es diferencial y selectivo para *Salmonella* y *Shigella*. No necesita ser esterilizado en autoclave. Las sales biliares inhiben a muchas Enterobacterias y microorganismos Gram positivos. El indicador rojo fenol permite la diferenciación de los no fermentadores de la lactosa (*salmonella* y *Shigella*) como colonias incoloras (rosa pálido). El citrato de hierro y amonio permite la visualización de microorganismos productores de sulfhídrico como colonias con centros negros. Los microorganismos que fermentan los carbohidratos del medio (xilosa, lactosa, y sacarosa) dan lugar a colonias amarillas.



h. Caldo Selenito

Caldo con selenito sódico que en ocasiones se suplementan con cisteína, diseñado para el enriquecimiento de salmonella. El selenito inhibe el crecimiento de coliformes y enterococos en las primeras 12 horas de incubación mientras que *Proteus* y *Salmonella* no son inhibidos.

8. Pruebas bioquímicas

a. Producción de indol

Si la bacteria posee la enzima triptofanasa, el aminoácido triptófano será degradado en varios productos entre los cuales este el indol, el cual se hace visible al agregarle el reactivo de kovac (p-dimetilaminobenzaldehído) o Erlich con un color rosado intenso sin la presencia de la enzima y ausencia del indol, el reactivo se ve transparente.

b. Agar Triple Azúcares y Hierro (TSI)

Este medio se utiliza para determinar la capacidad de los bacilos Gram negativos para fermentar lactosa, sacarosa y glucosa, así como para determinar su capacidad para producir H₂S (Ácido Sulfhídrico). Se realiza en tubo cuña inclinada picando el fondo y extendiendo la muestra sobre la superficie del medio, se incuba de 35-37 °C durante 24 horas.

- Pico alcalino/fondo ácido (pico rojo/fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta la glucosa.
- Pico ácido/fondo ácido (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa.
- Pico alcalino/fondo alcalino (pico rojo/fondo rojo): el microorganismo es no fermentador de azúcares.
- La presencia de burbujas, o ruptura del medio de cultivo, indica que el microorganismo produce gas.
- El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.

c. Prueba de Oxidasa

El Tetrametil-parafenilendiaminadihidrocloruro al 1% se emplea para la determinación de la citocromo oxidasa. Este reactivo sustituye al oxígeno como aceptor de electrones para la respiración bacteriana, proceso que se lleva a cabo en la membrana celular. En su



estado reducido es incoloro, pero en presencia de la enzima citocromo oxidasa se oxida formando el azul de indofenol, visible en los 10 primeros segundos de la prueba.

d. Prueba de Coagulasa

Es una sustancia similar a la trombina presente en los cultivos capaz de convertir el fibrinógeno en fibrina, lo que da como resultado la formación de un coágulo visible.

Preparación de plasma diluido 1:5 en un tubo estéril de plástico 15 x 100 se agrega 1 ml de plasma oxalato o citratado y 4 ml de solución salina 0.85%. Este plasma diluido al 1:5 se mantiene en congelación en viales estériles de 1 ml en pequeños lotes listos para su uso a 4°C, fundamentos bioquímicos de la bacteria: *Staphylococcus aureus* produce coagulasa, proteína de tipo enzimático de coagulasa el plasma oxalato o citratado en presencia de un factor contenido en muchos sueros. Resultado: positivo, formación del coágulo.

9. Condiciones generales del etiquetado de medicamentos de uso humano

El etiquetado o rotulado no debe desaparecer bajo condiciones de manipulación normales, ser fácilmente legible a simple vista y estar redactado en idioma español. Sin embargo, podrá redactarse a la vez en otros idiomas, pero la información debe ser esencialmente la misma.

Las etiquetas podrán ser de papel o de cualquier otro material que pueda ser adherido a los envases o empaques o bien de impresión permanente sobre los mismos; siempre y cuando este proceso de impresión no altere la integridad del envase o empaque sobre el cual se realiza dicha impresión.

La impresión de las etiquetas que se adhieran al envase o empaque, podrán estar en el reverso de las mismas, siempre que sean claramente visibles y legibles a través del envase o empaque con su contenido.

Para efectos de etiquetado las cunas, bandejas, burbujas y otros aditamentos, no se consideran envase o empaque secundario.

La concentración de vitaminas, enzimas, antibióticos y otros productos que se declaran en unidades, deberá expresarse en Unidades Internacionales (UI) o en unidades del Sistema Internacional (SI).



Si el producto se va a comercializar sin el envase o empaque secundario, el etiquetado del envase o empaque primario debe cumplir con todos los requisitos indicados para el envase o empaque secundario.

a. El etiquetado de los medicamentos según su forma farmacéutica

Las formas farmacéuticas en que pueden presentarse los medicamentos son: Tabletas (grageas y comprimidos), cápsulas, trociscos, supositorios, óvulos, parches transdérmicos y otras formas similares (cualquier vía de administración).

b. Etiquetado del envase/ empaque primario

La información mínima que deberá llevar el etiquetado del envase o empaque primario del producto, es la siguiente:

- Denominación del medicamento.
- Nombre completo del o los principios activos en su denominación común y su concentración bajo la modalidad de unidosis (formulaciones hasta dos principios activos). Se acepta omitir en el blíster, los principios activos de medicamentos polifármacos como en el caso de multivitamínicos, siempre y cuando se contemple en el empaque secundario.
- Nombre de la empresa responsable o laboratorio responsable o logotipo que identifique al laboratorio.
- Número de lote.
- Fecha de vencimiento.
- Contenido, en unidades (solo si se presenta en frascos).
- Forma farmacéutica (cuando no tenga envase o empaque secundario).
- Vía de administración (cuando no tenga envase o empaque secundario) para supositorios, óvulos, tabletas vaginales aunque tenga envase o empaque secundario.
- Número de registro sanitario (cuando no tenga envase o empaque secundario).

c. Etiquetado del envase/ empaque secundario

La información mínima que deberá llevar el etiquetado del envase o empaque secundario del producto, es la siguiente:

- Denominación del medicamento.



- Número de lote.
- Fecha de vencimiento.
- Contenido en unidades.
- Forma farmacéutica.
- Vía de administración, incluyendo indicación especial sobre la forma de administración cuando aplique.
- Composición del producto por unidad de dosis, indicando los nombres completos de los principios activos con su concentración.
- Uso pediátrico o frase equivalente (para productos de uso pediátrico exclusivo).
- Manténgase fuera del alcance de los niños o frase similar.
- Modalidad de venta.
- Número de registro sanitario.
- Nombre del laboratorio fabricante y país de origen.
- Nombre de la empresa responsable y país (si es diferente al fabricante).
- Nombre del laboratorio acondicionador o empacador (si es diferente al fabricante o al responsable) y país.
- Condiciones de almacenamiento.
- Precauciones, contraindicaciones y advertencias, sino están incluidas en el inserto.



VIII. MATERIAL Y MÉTODO.

1. Tipo de estudio

Experimental.

2. Área de estudio

Laboratorio de microbiología, carrera de farmacia, Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN-León.

3. Población

Medicamentos que se comercializan en buses rurales en el mercado del barrio Guanuca en la ciudad de Matagalpa.

4. Muestra

Tres medicamentos de consumo popular comercializados en los buses rurales en el mercado del barrio Guanuca en la ciudad de Matagalpa.

5. Unidad de análisis:

Polvo contenido en las capsulas de las muestras en estudio.

6. Tipo de muestreo

No probabilístico por conveniencia, debido a que permite establecer criterios para seleccionar la muestra así como los que nos planteamos y exponemos posteriormente en estudio.

Mediante una entrevista realizada a las personas que venden medicamentos en los buses, haciéndonos pasar como pacientes y compradores por varios fines de semanas consecutivos, además de observar en cada viaje los productos que estos vendedores recomendaban. De esta manera nos informamos cuales eran los medicamentos más demandados por la población procediendo a comprar los 3 medicamentos con presentación en capsulas al mismo vendedor, ya que estos no poseían el número de lote para realizar el ensayo.

7. Criterio de inclusión

- Medicamentos comercializados ambulatoriamente en la ciudad de Matagalpa, en buses rurales del mercado en el barrio Guanuca.
- Medicamentos ambulatorios más utilizados por la población.
- Medicamentos ambulatorios con datos faltantes en su etiqueta.



8. Criterio de exclusión

- Medicamentos comercializados ambulatoriamente en otros barrios y/o buses de la ciudad de Matagalpa.
- Medicamentos ambulatorios menos utilizados por la población.
- Medicamentos ambulatorios con datos completos en la etiqueta.

9. Variables

- Datos contenidos en la etiqueta.
- Cuantificación de bacterias aerobias.
- Cuantificación de hongos.
- Identificación de bacterias patógenas.

10. Operacionalización de variables

TABLA N° 2

VARIABLE	DEFINICIÓN	INDICADOR	ESCALA
Datos contenidos en la etiqueta.	El objetivo de una etiqueta de medicamento es describirlo e identificarlo, además de contribuir a su uso óptimo y evitar errores de medicación, indicar el manejo y almacenamiento apropiado.	Denominación del medicamento. Nombre completo del o los principios activos. Nombre de la empresa, laboratorio o logotipo que lo identifique. Número de Lote. Fecha de vencimiento. Contenido en unidades. Forma farmacéutica. Vía de administración Número de registro sanitario.	Posee No posee
Cuantificación de bacterias aerobias.	Conteo de las colonias de bacterias aerobias en una muestra analizada.	Colonias pequeñas y medianas que crecen en la superficie del agar.	UFC/g
Cuantificación de hongos y levaduras.	Conteo de las colonias de hongos y levaduras en una muestra analizada.	Colonias filamentosas y no filamentosas que crecen en la superficie del agar.	UFC/g
Identificación de bacterias patógenas.	Aquellas bacterias que atacan al organismo y causan enfermedades infecciosas en los seres humanos.	<i>Escherichia coli.</i> <i>Pseudomona aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella spp.</i>	Presencia Ausencia.



11. Procedimiento

Preparación de los medios de cultivo como son Solución Buffer Fosfato pH 7.2, Agar Digerido de Caseína Soja, Agar Nutritivo, Agar Sabouraud Dextrosa, Agar MacConkey, Agar Baird-Parker, Agar Cetrimide, Agar XLD, Agar EMB, Agar TSI y Caldo Selenito Cistina que fueron previamente calculados según la cantidad a utilizar y pesados en la balanza, se disolvieron con agua en punto de ebullición, se les colocó un tapón al Erlenmeyer y se llevó al autoclave.

Autoclavar los agares por 15 minutos a una temperatura de 121°C. Agregar a las placas petri y dejar solidificar. Excepto Agar XLD que se disuelve en baño María. En el caso de agar TSI dejar solidificar en tubos de ensayo en cuña inclinada.

a. Procedimiento para RTMA y RTCHL

1. Colocarnos el equipo de protección para entrar al laboratorio.
2. Lavado adecuado de manos.
3. Limpieza de frascos de medicamentos con algodón y alcohol.
4. Preparación de los medios de cultivos.
5. Lavado de mano.
6. Cambio de guantes.
7. Nuevamente limpieza de los frascos.
8. Introducción al área aséptica.
9. Realizar un pool de cada una de las muestras.
10. Pesar 1g de la muestra y añadir a los tubos de ensayo con caldo triptica soja.
11. Pesar 10g de la muestra en el erlenmeyer que contenía 90ml de solución buffer fosfato pH 7.2 y disolver (esta sería la primera dilución).
12. De la primera dilución transferir 1 ml a 1 tubo de ensayo que contiene 9ml de la solución buffer fosfato pH 7.2 y agitar (esta sería la segunda dilución).
13. Realizar el procedimiento por duplicado.
14. De la primera dilución añadir 1ml a placas petri vacía y estéril proceder a agregar aproximadamente 15 mL agar Nutritivo para cuantificar bacterias aerobias mesófilas y otras 2 se añaden aproximadamente 15 mL de agar Sabouraud para cuantificación de Hongos y Levaduras. Se deja solidificar los medios.
15. Repetir el procedimiento anterior con la segunda dilución.



16. Incubar las placas petri invertidas a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 a 72 horas, para el conteo de microorganismos aerobios.
17. Incubar las placas que contienen el Agar Sabouraud con la muestra, de manera invertida a una temperatura de $22^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$ por 5 días.
18. Conteo de colonias presentes en las placas.
19. Anotar resultados.

b. Procedimiento para la determinación de microorganismos específicos

Para *Escherichia coli*

1. Debido a que los tubos de ensayo que contenían la muestra y Caldo Digerido Caseína Soja presentaban turbidez, se procede a la identificación de microorganismos patógenos, realizando subcultivo en los medios específicos.
2. Con un asa de inoculación estéril, transferir del caldo digerido caseína soja a placas con agar MacConkey, realizando un rayado sobre la superficie del agar para la identificación de la bacteria.
3. Incubar las placas petri invertidas por un período de 24 a 48 horas a una temperatura de $35-37^{\circ}\text{C}$.
4. Observar si hay presencia de los microorganismos.
5. En caso de encontrar presencia de los microorganismos proceder a la identificación con Agar EMB.
6. Transferir las colonias sospechosas, realizando un subcultivo a la placa que contiene agar EMB.
7. Incubar las placas invertidas a una temperatura de $30-35^{\circ}\text{C}$ por 72 horas.
8. Observar y anotar resultados.

Para *Staphylococcus aureus*

1. Con un asa de inoculación estéril, transferir del tubo con muestra y Caldo digerido caseína soja que presentaba turbidez a placas con agar Baird-Parker, realizando un rayado sobre la superficie del agar para la identificación de la bacteria.
2. Incubar las placas petri invertidas por un período de 24 a 48 horas a una temperatura de $35-37^{\circ}\text{C}$.
3. Observar si hay presencia de los microorganismos.
4. Anotar resultados.



Para *Pseudomona aeruginosa*

1. Con un asa de inoculación estéril, transferir del tubo con muestra y Caldo digerido caseína soja que presentaba turbidez a placas con agar Cetrimide, realizando un rayado sobre la superficie del agar para la identificación de la bacteria.
2. Incubar las placas petri invertidas por un período de 18 a 72 horas a una temperatura de 30-35°C.
3. Observar si hay presencia de los microorganismos.
4. Anotar resultados.

Para *Salmonella*

1. Debido a que los tubos de ensayo que contenían la muestra y Caldo Digerido Caseína Soja presentaban turbidez, se procede a la identificación de microorganismos patógenos, realizando subcultivo en los medios específicos.
2. Transferir 1 ml del tubo de ensayo que presentaba turbidez y sedimentación, al tubo que contiene caldo Selenito Cistina. Agitar.
3. Incubar a una temperatura de 30-35°C por 24 horas.
4. Observar las muestras de los tubos de ensayo con Selenito Cistina.
5. En caso de encontrar presencia del microorganismo proceder a la identificación con Agar XLD.
6. Del tubo con la muestra y Selenito Cistino, subcultivar a Agar XLD, realizando estrías sobre la superficie de esta placa.
7. Incubar la placa invertida a una temperatura de 30-35°C por un período de 18 a 48 horas.
8. Observar y anotar resultados. En caso de encontrar colonias sospechosas proceder a la identificación con Agar TSI.
9. Posterior al período de incubación de las placas con las colonias sospechosas y agar XLD, transferir dichas colonias al tubo con agar TSI, realizando un rayado en cuña inclinada.
10. Incubar a una temperatura de 30-35°C por 72 horas.
11. Observar y anotar resultados.



c. Procedimiento para la confirmación de Salmonella, solo para la muestra 3 utilizando agar XLD

1. Del tubo en cuña inclinada, introducir un asa de inoculación estéril.
2. Transferir las colonias sospechosas a la placa con agar XLD, realizando un rayado, para el proceso de purificación y así confirmar si hay presencia del microorganismo.
3. Incubar la placa invertida a una temperatura de 30-35°C por 24 horas.
4. Observar y anotar resultados.

d. Método e instrumentos de recolección de datos

Antes de realizar el ensayo se anotan los datos de la etiqueta que identifican la muestra asignando número 1, 2 y 3 a cada muestra respectiva, posterior al ensayo se observan los resultados los cuales se escribieron en una ficha que se elaboró para este fin.

e. Procesamiento y análisis de datos

Los datos obtenidos se analizaron considerando lo indicado en las referencias bibliográficas correspondiente al tema, la presentación de los resultados se realizaron en tablas utilizando el programa Microsoft Office Word 2013.



IX. RESULTADOS Y ANÁLISIS

TABLA N°3

MUESTRA 1		
Tipo de Análisis		Resultado del Ensayo
Determinación de Microorganismos Específicos		
<i>Staphylococcus aureus</i>		+
<i>Pseudomona aeruginosa</i>		-
<i>Escherichia coli</i>		-
<i>Salmonella spp</i>		-
NOTA: Otros microorganismos encontrados, no requeridos por la farmacopea fueron: <i>Klebsiella spp</i> y <i>Proteus spp</i> .		
Recuento Total de Microorganismos Aerobios, Hongos y Levaduras		
RTCHL (Recuento Total combinado Hongos y Levaduras)	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²
	>300 UFC/g	74 UFC/g
RTMA (Recuento Total Microorganismos Aerobias)	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²
	>300 UFC/g	>300 UFC/g

ANÁLISIS:

RTMA Y RTCHL:

De la muestra analizada se observó un gran número de colonias que crecieron en los diferentes medios de agar Triptica Soja para bacterias aerobias y agar Saboraud Dextrosa para hongos y levaduras, lo que indica que el medicamento no es apto para el consumo y puede perjudicar la salud de la población que lo consume.

MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS:

Se observó una ligera turbidez y sedimentación en el tubo de ensayo que contenía medio caseína soja y la muestra 1; por lo que se procedió a la identificación de los posibles microorganismos específicos, realizando con ayuda de un asa de inoculación estéril estrías con una porción del medio sobre la superficie del medio agar Baird Parker,



posterior al período de incubación se observaron colonias de color dorado que crecieron en el medio, lo que indica la presencia de *Staphylococcus aureus*.

En la muestra 1 que presentaba turbidez y sedimentación con un asa de inoculación estéril se realizó un subcultivo en el medio agar Cetrimide, se dejó incubar y posterior a este tiempo de incubación no se observó la presencia de colonias verdes características, esto quiere decir que no hay presencia de *Pseudomona aeruginosa*.

De igual forma del medio caseína soja con la muestra 1 se realizaron estrías con un asa de inoculación estéril en el medio Agar MacConkey, se dejó incubar y se notó a las 24 horas colonias en la superficie con una ligera coloración rosa chicha, lo que podía indicar la presencia de la bacteria *Escherichia coli*. Se dejó incubar por 24 horas más y hubo un cambio en la pigmentación del medio tornándose café, se procedió a la identificación con Agar EMB en el que se realizaron estrías con un asa de inoculación transfiriendo las colonias sospechosas. Se pasó a incubar y no se observó la pigmentación verde metálico de las colonias, lo cual indica que en la muestra hay ausencia de *Escherichia coli*.

Se extrajo 1 ml de la muestra a caldo Selenito Cistino, se dejó incubar observándose una ligera coloración y turbidez, que significaba la posible presencia de la bacteria por el cual procedimos a transferir con un asa de inoculación estéril al agar XLD, se incubo y posterior al tiempo de incubación no se encontró crecimiento de colonias rojas características, lo que indica la ausencia de *Salmonella spp*.

OTROS MICROORGANISMOS ENCONTRADOS NO REQUERIDOS POR LA FARMACOPEA:

La colonia encontrada en XLD se transfirió a cuña inclinada con Agar TSI, se observó en el pico una coloración rojiza con puntos negros y en el fondo una coloración amarilla con precipitado negro que indica la producción de sulfuro de hidrogeno acompañado de olor característico putrefacto lo cual nos indica presencia de *Proteus spp*.

De las placas con agar EMB se observó un crecimiento de colonias grandes mucoides e incoloras lo cual indica por sus características la presencia de *Klebsiella spp*.



TABLA N°4

MUESTRA 2		
Tipo de Análisis		Resultado del Ensayo
Determinación de Microorganismos Específicos		
<i>Staphylococcus aureus</i>		+
<i>Pseudomona aeruginosa</i>		-
<i>Escherichia coli</i>		-
<i>Salmonella spp</i>		-
NOTA: Otros microorganismos encontrados no requeridos por la farmacopea fueron: <i>Klebsiella spp.</i>		
Recuento Total de Microorganismos Aerobios, Hongos y Levaduras		
RTCHL (Recuento Total combinado Hongos y Levaduras)	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²
	>300 UFC/g	60 UFC/g
RTMA (Recuento Total Microorganismos Aerobias)	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²
	>300 UFC/g	>300 UFC/g

ANÁLISIS

RTMA Y RTCHL:

De la muestra analizada se observó un gran número de colonias que crecieron en los diferentes medios de agar Triptica Soja para bacterias aerobias y agar Sabraud Dextrosa para hongos y levaduras, lo que indica que el medicamento no es apto para el consumo y puede perjudicar la salud de la población que lo consume.

MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS:

En el tubo de ensayo que contenía caldo triptica soja y la muestra 2 se observó una ligera turbidez y sedimentación; por lo que se procedió a la identificación de los posibles microorganismos específicos, se procedió a realizar estrías sobre la superficie de medio agar Baird Parker tomando una porción del medio utilizando un asa de inoculación estéril,



al terminar el período de incubación se observó que en el medio crecieron colonias de color dorado, lo cual nos indica que estamos ante la presencia de *Staphylococcus aureus*.

Al observar en la muestra 2 presencia de turbidez y sedimentación, se procedió a preparar un medio agar Cetrimide al cual se le realizaron estrías tomando una porción de la muestra 2 utilizando un asa de inoculación estéril. Se puso en incubación y al transcurrir el período no se observó la presencia de colonias verdes, lo cual nos indica que no hay presencia de *Pseudomona aeruginosa*.

Del tubo de ensayo que contenía Caldo Triptica Soja y la muestra 2, se realizaron estrías con un asa de inoculación estéril en el medio Agar MacConkey, se dejó incubar y se observó a las 24 horas presentaba una ligera coloración rosa, lo que podía indicar la presencia de la bacteria *Escherichia coli*. Se dejó incubar por 24 horas más y hubo un cambio en la pigmentación del medio tornándose café, se procedió a la identificación con Agar EMB del que se realizaron estrías con un asa de inoculación transfiriendo las colonias sospechosas del agar MacConkey a agar EMB. Se procedió a incubar y no se observó la pigmentación verde metálico de las colonias, lo cual indica que en la muestra hay ausencia de *Escherichia coli*.

Se extrajo 1 ml de la muestra a caldo Selenito Cistina, se dejó incubar observándose una ligera coloración y turbidez, que significaba la posible presencia de la bacteria por el cual procedimos a identificar con el agar XLD, realizando estrías con un asa de inoculación estéril sobre la superficie de la placa con agar XLD, se incubó y posterior al tiempo de incubación no se encontró crecimiento de colonias sospechosas, lo que indica la ausencia de *Salmonella spp.*

OTROS MICROORGANISMOS ENCONTRADOS NO REQUERIDOS POR LA FARMACOPEA:

De las placas con agar EMB se observó un crecimiento de colonias grandes mucoides lo cual indica por sus características la presencia de *Klebsiella spp.*



TABLA N°5

MUESTRA 3		
Tipo de Análisis		Resultado del Ensayo
Determinación de Microorganismos Específicos		
<i>Staphylococcus aureus</i>		-
<i>Pseudomona aeruginosa</i>		-
<i>Escherichia coli</i>		-
<i>Salmonella spp</i>		-
NOTA: Otros microorganismos encontrados no requeridos por la farmacopea fueron: <i>Klebsiella spp.</i>		
Recuento Total de Microorganismos Aerobios, Hongos y Levaduras		
RTCHL (Recuento Total combinado Hongos y Levaduras)	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²
	>300 UFC/g	72 UFC/g
RTMA (Recuento Total Microorganismos Aerobias)	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²
	>300 UFC/g	>300 UFC/g

ANÁLISIS:

RTMA Y RTCHL:

De la muestra analizada se observó un gran número de colonias que crecieron en los diferentes medios de agar Triptica Soja para bacterias aerobias y agar Saboraud Dextrosa para Hongos y Levaduras, lo que indica que el medicamento no es apto para el consumo y puede perjudicar la salud de la población que lo consume.

MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS:

En el tubo de ensayo que contenía caldo caseína soja más la muestra 3 se observó durante el ensayo una turbidez y sedimentación, lo que indica la posible presencia de las bacterias, se procedió a la identificación con el medio agar Baird Parker previamente rayado la muestra, se dejó incubando y pasado su tiempo no se observaron colonias de color dorado por lo que se deduce que hay ausencia de *Staphylococcus aureus*.



De la muestra anterior, sedimentada y turbia, se introdujo un asa de inoculación estéril para realizar estrías en el medio agar Cetrimide, se dejó incubar y al haber transcurrido este tiempo no se observó colonias verdes lo que indica la ausencia de *Pseudomona aeruginosa*.

En el medio agar MacConkey al igual que en los resultados de la muestra 1 y 2, se transfirieron las colonias sospechosas presentes en el agar MacConkey al agar EMB, se incubó y después de este período no se observó la pigmentación de las colonias color verde metálico, en el cual nos indica que en la muestra hay ausencia de *Escherichia coli*.

Del caldo Selenito Cistina previamente mezclado con la muestra e incubado, se observó una coloración café oscuro con turbidez indicando la posible presencia del microorganismo. Se procedió a identificar con agar XLD realizando estrías sobre la superficie de este, se llevó a la incubadora y después de este lapso había un crecimiento de colonias sospechosas por lo que se siguió con la prueba del medio agar TSI, transfiriendo las colonias presentes en la placa de XLD con un asa de inoculación se realizó el rayado en el tubo de cuña inclinada que contenía el agar TSI, se dejó incubar y al pasar este tiempo se logró observar en el fondo una coloración amarilla y en el pico del tubo una coloración roja. Por lo cual procedimos a la purificación del microorganismo transfiriendo las colonias sospechosas del tubo con TSI, con un asa de inoculación estéril haciendo estrías en la placa con agar XLD, se dejó incubar y pasado este período se observó que no había colonias de coloración roja por lo tanto en la muestra había ausencia de *Salmonella spp.*

OTROS MICROORGANISMOS ENCONTRADOS NO REQUERIDOS POR LA FARMACOPEA:

De las placas con agar EMB se observó un crecimiento de colonias grandes mucoides e incoloras lo cual indica por sus características la presencia de *Klebsiella spp.*



INFORMACIÓN MÍNIMA QUE DEBE CONTENER EL EMPAQUE PRIMARIO DE COMPRIMIDOS, CAPSULAS, SUPOSITORIOS U ÓVULOS.

TABLA N°6

Datos del etiquetado del envase según el Reglamento Técnico Centroamericano de Etiquetado de Medicamentos para uso humano.	Datos que contiene la etiqueta de las muestras.		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Denominación del medicamento.	✓	✓	✓
Nombre completo del o los principios activos en su denominación común y su concentración bajo la modalidad de unidosis.	✗	✓	✗
Nombre de la empresa responsable o laboratorio responsable o logotipo que identifique al laboratorio.	✗	✗	✗
Número de lote.	✗	✗	✗
Fecha de vencimiento.	✓	✓	✓
Contenido en unidades.	✓	✓	✓
Forma farmacéutica.	✓	✓	✓
Vía de administración.	✗	✗	✗
Número de registro sanitario.	✗	✗	✗

Leyenda:

No posee ✗

Si posee ✓

ANÁLISIS:

Después de la verificación del contenido en las etiquetas de las muestras se puede observar que estos medicamentos no poseen los datos completos que son los establecidos por el RTCA de etiquetado de medicamentos, pues deben poseer 9 datos equivalentes al 100% y en el caso de las muestras 1 y 3 solo poseen 4 datos que equivalen al 44.4%, y, en la muestra 2 que contiene 5 datos los cuales equivalen al 55.5% y además esta no tiene una letra legible y clara. Esto nos indica que el etiquetado de estos medicamentos no cumple con el reglamento, lo que puede crear confusiones en la población consumidora.



EQUIVALENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO

TABLA N° 7

EQUIVALENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO UTILIZADO CON EL MEDIO RECOMENDADO POR EL MÉTODO FARMACOPEICO	
MÉTODO FARMACOPEICO	MÉTODO UTILIZADO
Agar Digerido de Caseína Soja	Agar Nutritivo
>300 UFC/g	>300 UFC/g

ANÁLISIS

Con la muestra N°1 que poseía mayor crecimiento de microorganismos se procedió a realizar la equivalencia de los medios agar Nutritivo con el medio de cultivo establecido por la Farmacopea Agar Digerido de Caseína Soja, recomendados para el recuento de microorganismos aerobios. Se prepararon los medios por separado y se agregó 1 mL de la primera dilución a las que se añadió 15 mL de agar a cada una de las placas petri, se dejó solidificar e incubar de forma invertida por 3 días a T° 30°-35°C.

Debido a que en el laboratorio de microbiología de la facultad no se contaba con agar Digerido de Caseína Soja para realizar todo el procedimiento, se procedió a realizar la prueba de equivalencia establecido en la Farmacopea 32, capítulo 62 EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS NO ESTERILES: PRUEBAS DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS: “Pueden utilizarse procedimientos microbiológicos alternativos, incluyendo métodos automatizados, siempre que se haya demostrado su equivalencia con el método farmacopeico”.

De la muestra analizada se observó un gran número de colonias que crecieron en los diferentes medios de agar Nutritivo y agar Digerido de Caseína Soja, demostrándose que el agar Nutritivo es igual de reproducible que el establecido en la farmacopea, ya que se presenció una uniformidad de crecimiento.



X. CONCLUSIÓN

En el análisis de calidad microbiológica en 3 muestras de medicamentos comercializados ambulatoriamente en la ciudad de Matagalpa, emitimos la siguiente conclusión:

- De las muestras analizadas se cuantificó la presencia de Bacterias Aerobias Mesofilas obteniendo más de 300 UFC/g de muestra.
- En la cuantificación de Hongos y Levaduras encontramos en la segunda dilución de la muestra 1: 74 UFC/g, en la muestra 2: 60 UFC/g y en la muestra 3: 72 UFC/g.
- En la identificación de bacterias patógenas (*Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, y *Salmonella spp*) solo en las muestras 1 y 2 se identificó la presencia de *Staphylococcus aureus*.

La hipótesis que se planteó al inicio de este estudio se rechaza, ya que los resultados obtenidos reflejan que los medicamentos que se analizaron, comercializados ambulatoriamente no cumplen con calidad microbiológica aceptable, aceptándose la hipótesis nula.

Por lo tanto, los medicamentos analizados en el estudio no cumplen con las especificaciones establecidas en la farmacopea USP 32.



XI. RECOMENDACIONES

- Al ministerio de salud como ente regulador de control de calidad de los medicamentos, exija un mayor control y existencia de registro sanitario en estos productos.
- A la universidad promover en los estudiantes el interés por realizar este tipo de estudios en demás fármacos que no presenten registro sanitario y se comercialicen ambulatoriamente en todo el país, para así comprobar su calidad microbiológica, ya que, así como las muestras de nuestro estudio no cumplían con las especificaciones establecidas, es posible que los demás medicamentos ambulatorios tampoco las posean.
- Realizar estudios físico-químicos para comprobar si estos medicamentos poseen los principios activos descritos en su etiqueta y que no pongan en riesgo la salud de la población que lo consumen.



XII. BIBLIOGRAFIA

- Farmacopea de los Estados Unidos de América. USP 32 & NF31. (2013). Vol. 1, pp.61-68. The United States Pharmacopeial Convention Inc. Rockville, MD. Recuperado de: <file:///E:/USP%2036/USP%2036%20-%2031%20VOLUMEN%201%20-%20Pagina%20al%20492.pdf>. Revisado el 15 de febrero del 2017.
- Ley de medicamentos y farmacias, ley 292 (1998). Nicaragua: La Gaceta. Disponible en <http://www.minsa.gob.ni/index.php/repository/Descargas-MINSA/Direcci%C3%B3n-General-de-Regulaci%C3%B3n-Sanitaria/Direcci%C3%B3n-de-Farmacia/Leyes/Ley-No.-292-Ley-De-Medicamentos-Y-Farmacias/>. Revisado el 10 de enero del 2017.
- Reglamento Técnico Centroamericano (2014) productos farmacéuticos, etiquetado de productos farmacéuticos para uso humano. Nicaragua: MIFIC, pág. n°4. Recuperado de: <http://www.mific.gob.ni/LinkClick.aspx?fileticket=bXF1cZDSzq8%3D&tabid=437>. Revisado el 15 de febrero del 2017.
- Arguello Gallo N. R. y Martínez Ulloa Y. M. (2004) "*Análisis microbiológico de fitofármacos no obligatoriamente estériles elaborados por el laboratorio ecolife*". León, Nicaragua: Tesis (Lic. en Farmacia y Química)-Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León.
- Bolaños Lopez L. del C., Bolaños Lopez J. E. y Lopez Peralta B. E. (2007). "*Determinación del límite microbiano al jarabe de carao (Cassia Grandis l.) con mayor demanda por la población, comercializados en centros naturistas de la ciudad de León*". Enero, 2007. León, Nicaragua: tesis (Lic. en Farmacia y Química)-Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León.
- Hernández Rueda R. L. y Merlos Carrero S. L. (2011). "*Determinación del límite microbiano de jarabes de guayaba (Psidium spp.) comercializados en la ciudad de León Julio- agosto de 2011*". León, Nicaragua: Tesis (Lic. en Farmacia y Química)-Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León.
- Arguello Ramírez E. P. y Artega Ruiz R. M. (2012). "*Calidad Microbiológica de medicamentos no obligatoriamente estériles comercializados en las canastas de los mercados de la ciudad de León enero-Abril 2012*". León, Nicaragua: Tesis



(Lic. en Farmacia y Química), Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León.

Otras referencias:

- BD description (2003). BD Tryptic Soy Agar. Recuperado de: <http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/BA/ES-BA-256665.pdf>. Revisado 1 de Marzo del 2017.
- BD description. (2013). BD Brilliant Green Agar. Recuperado de: <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8755>. Revisado el 2 de marzo del 2017.
- DIBICO (2017). Agar Saboraud Dextrosa. Recuperado de: <http://www.probiotek.com/productos/reactivos/medios-de-cultivo-reactivos/agar-dextrosa-sabouraud/>. Revisado el 1 de marzo del 2017.
- Laboratorios Britania (2010). MacConkey agar. Recuperado de: <http://www.britanialab.com/productos/B23114%20REV%2001-MAC%20CONKEY%20AGAR.pdf>. Revisado el 1 de marzo del 2017.
- Laboratorios Britania (2010). E.M.B agar. Recuperado de: <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/embagar.htm>. Revisado el 1 de marzo del 2017.
- Laboratorios Britania (2010). Salmonella Shigella Agar. Recuperado de: <http://www.britanialab.com/productos/B02138%20REV%2001-SALMONELLA%20SHIGELLA%20AGAR.pdf>. Revisado el 2 de marzo del 2017.
- Laboratorios Britania (2010). TSI Agar. Recuperado de: <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/tsiagar.htm>. Revisado el 2 de marzo del 2017.
- Merck KGaA (2017). 107709 Caldo de enriquecimiento selenito-cistina. Recuperado de: http://www.merckmillipore.com/GT/es/product/Selenite-cystine-enrichmentbroth,MDA_CHEM107709?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com.ni%2F#documentation. Revisado el 1 de marzo del 2017.
- Microbiology Solutions Resource Library (2013). Recuperado de: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Agar_XLD.pdf. Revisado el 2 de marzo del 2017.



XIII. ANEXOS

Entrevista realizada a las personas que venden en los buses del mercado en el barrio Guanuca en la ciudad de Matagalpa.

- Buenos días me podría decir ¿Que medicamentos son buenos cuando me siento cansado, débil, con mucho sueño o mareos?
- ¿Y usted anda de venta algo que me sirva para estos malestares?
- Y esas, ¿Cómo se toman?
- ¿Estas son las mejores, las que la gente compra más?
- ¿Las pueden tomarlos niños?
- ¿A qué precio las tiene?
- Ahora no ando el dinero, ¿Usted se mantiene aquí para regresar a comprarla?
- Muchas gracias.

Información presentada en la etiqueta de cada muestra:

Muestra 1: G [REDACTED] **20 capsulas.**

Información contenida en la etiqueta:

Producto peruano.

Expira 2018

Dosis: 2 cápsulas al día.

Indicado: Agotamiento mental, cansancio, fatiga, los síntomas de debilidades corporales, eleva su potencia sexual.

Descripción del Frasco:

Frasco color verde, tapón rojo, cápsulas color cobrizo

Muestra 2: G [REDACTED] **20 cápsulas.**

Información contenida en la etiqueta:

Recommended Dosage 1 capsula dialy.

Each capsula contain US

Vitamina RDA Vitamina RDA.

Vitamina A 5,000 Int U. 100 Riviflavina 2.6mg 150

Vitamina D, 400 Int. U. 100 Niacin 30mg 150

Vitamin E 15Int. U. Vitamin B-6mg 150



Vitamin C 400 Int. Mg 150 vitamin B-12mg 150

Folic Acid 400 mg 100 Pantothenic

Thiamina 2.25mg 150 acid 15mg 150

Porcentaje of US Recomendado daily allowanse Glycerin, Niacinamme, calculum Pantothenate Vitamin E, Acetate, tolkow max, lecilin pyrodozini, Hidricloride (B6), Vitamin A Palminate Thiamine Monitrate (B-1), Rivo flavin... (B-2), cholecasifero (Vit-A) FD8C RedNo.40 Folic Acid. Eltry Valin Tianmiun Dioxide Vamita Enganecet Clonoco Bain (B-12).

NDC 54092030-90

Warning: Keet out of rearch Children keep container closed. Sore at room temperature.

Distribuided by; Robert Laboratories, Inc.

NJ 09090 1001

Exp 05/2019

Descripción del Frasco:

Frasco plástico Transparente, tapón azul, cápsulas color rojo.

MUESTRA 3: U [REDACTED] 20 capsulas de 500mg.

Información contenida en la etiqueta:

Producto 100% Natural

Exp. Dic 2018

Dosis: 2 cápsulas al día

Uropirim + Rompe Piedra está indicado para infecciones renales, para el dolor de espalda. Es efectiva para sacar piedras acumuladas en las vías urinarias.

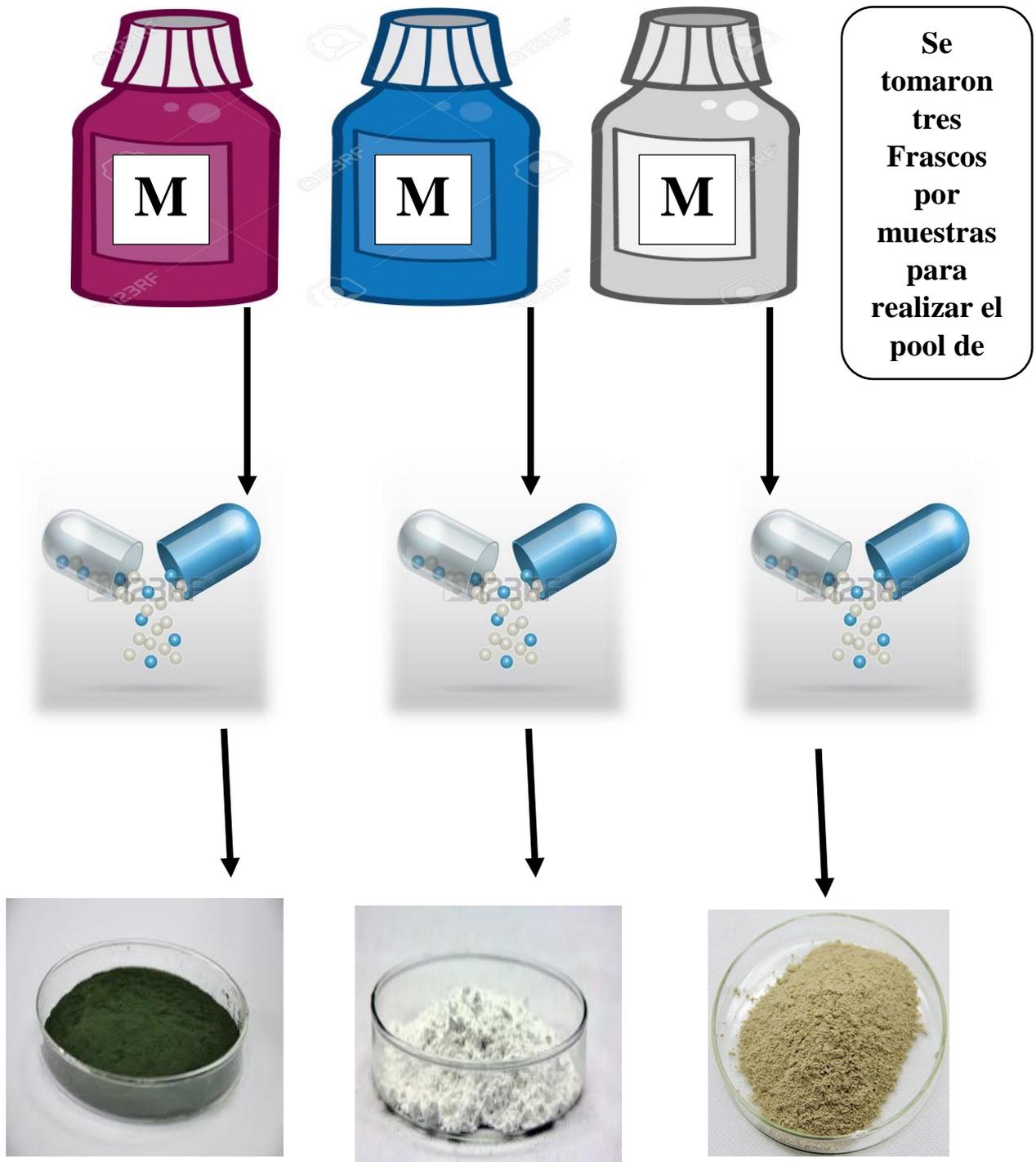
Producto peruano.

Descripción del Frasco:

Frasco plástico verde, tapón rojo, cápsulas color azul.

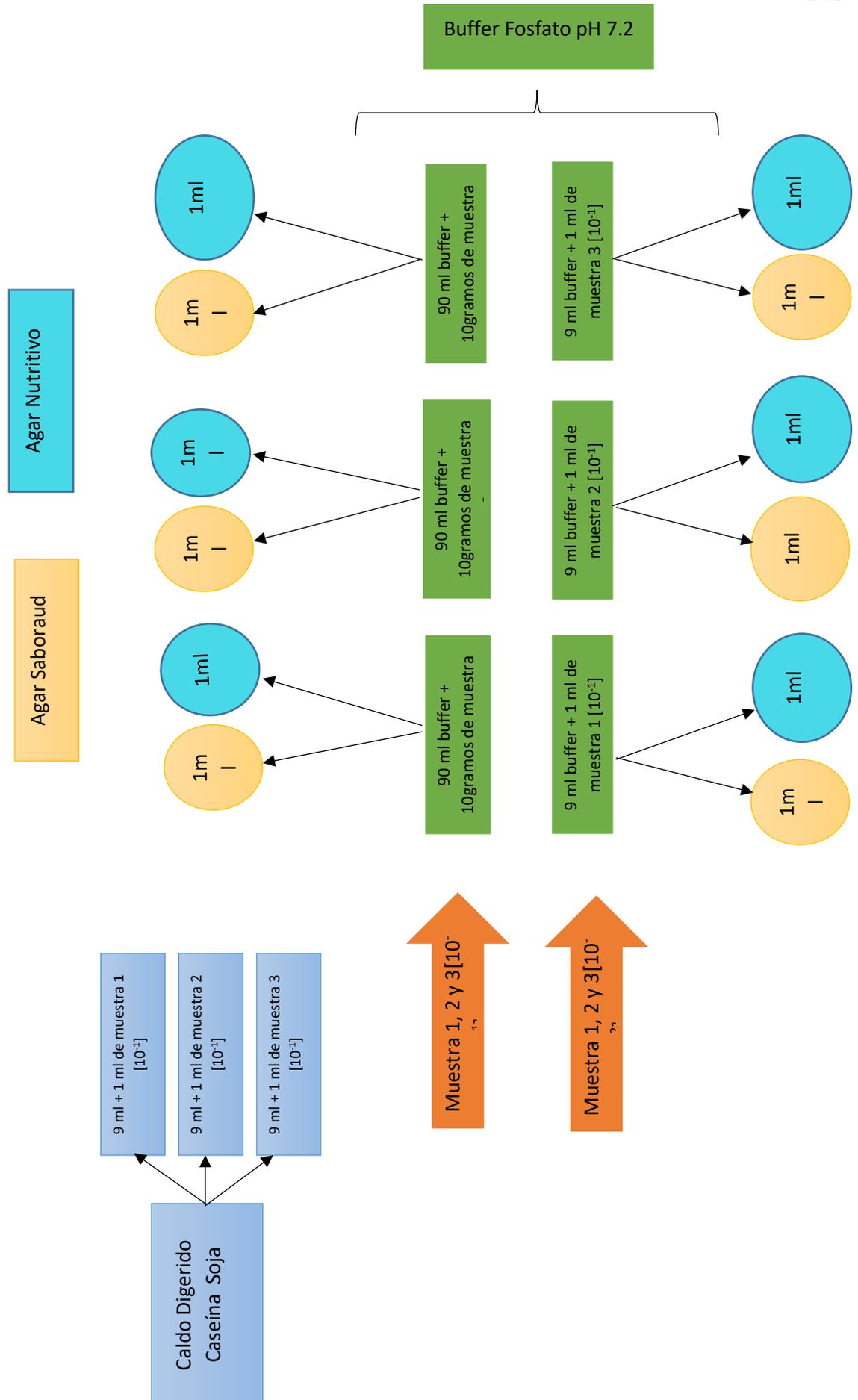


POOL DE LAS MUESTRAS



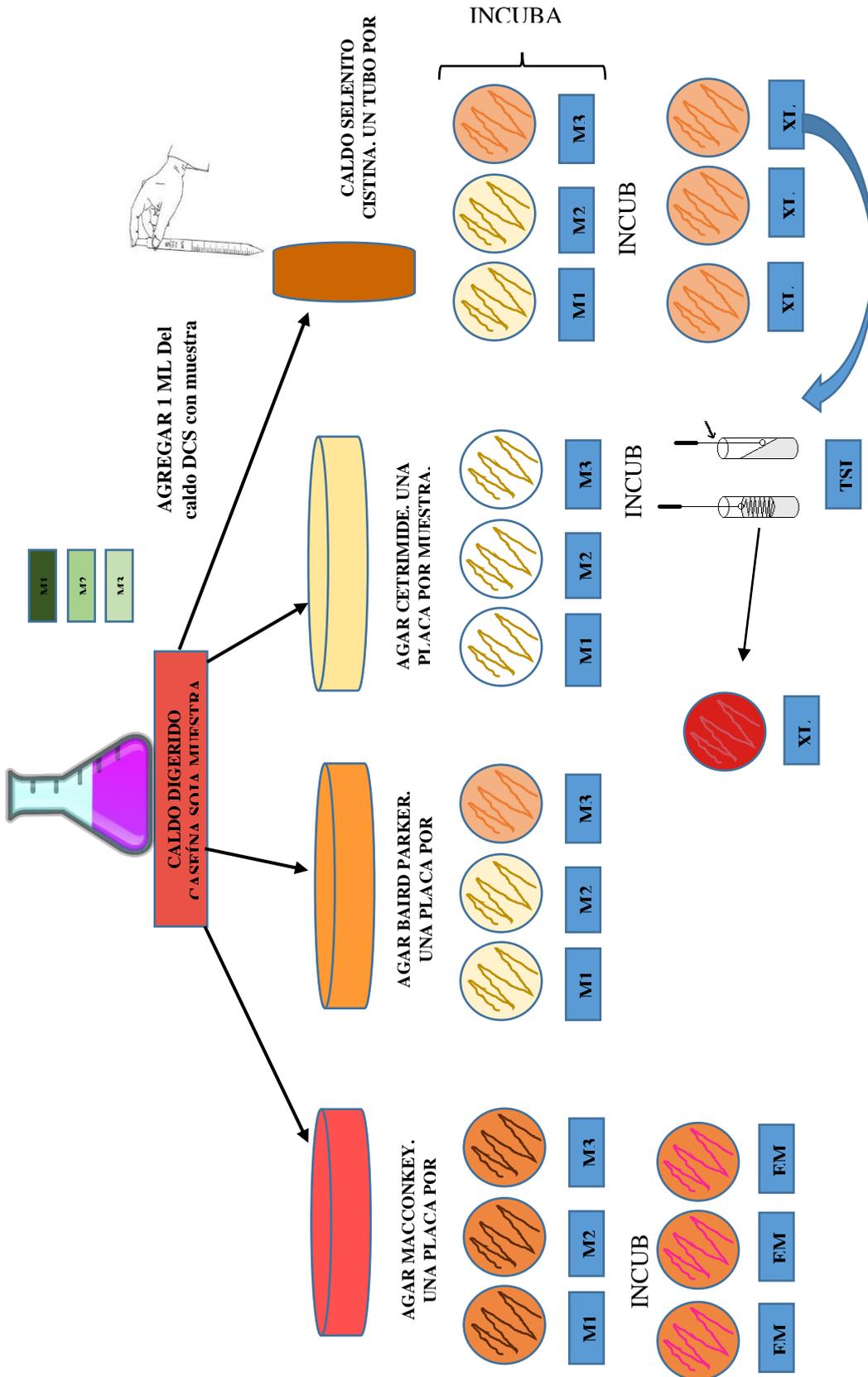


PROCEDIMIENTO DE IDENTIFICACION DE BACTERIAS AEROBIAS, HONGOS Y LEVADURAS





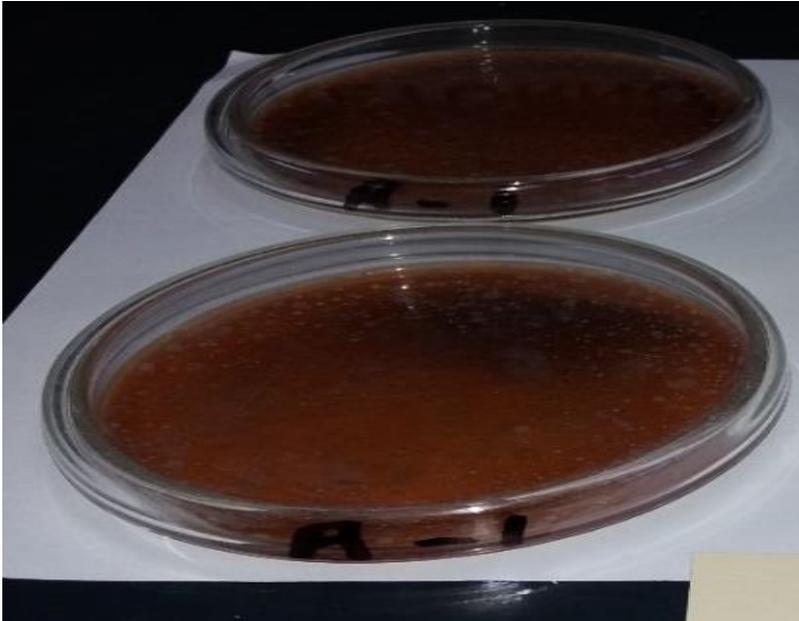
Determinación de Microorganismos





RESULTADOS DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS

MUESTRA 1



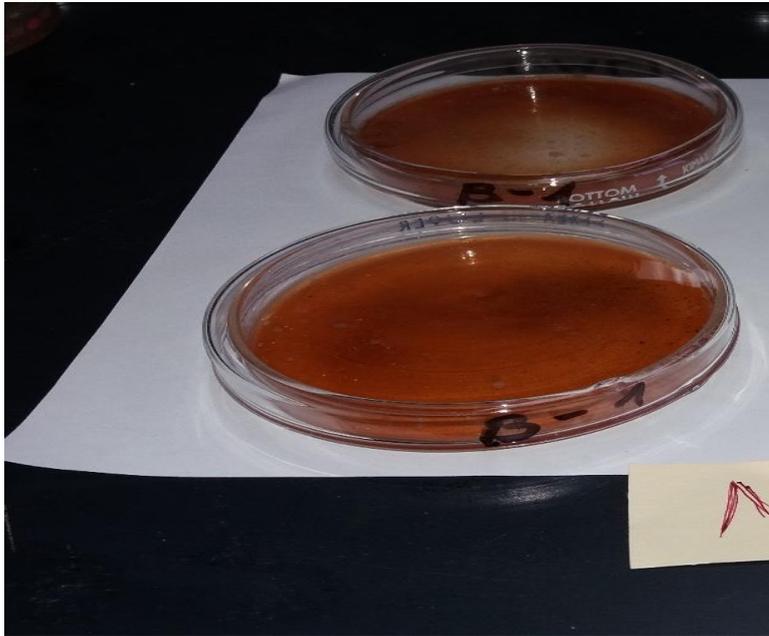
**Primera
Dilución 10¹**



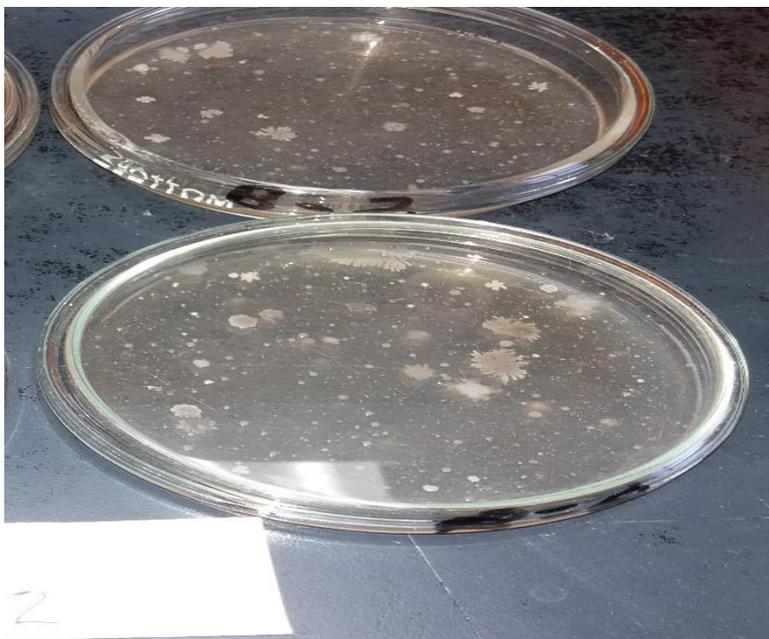
**Segunda
Dilución 10²**



MUESTRA 2



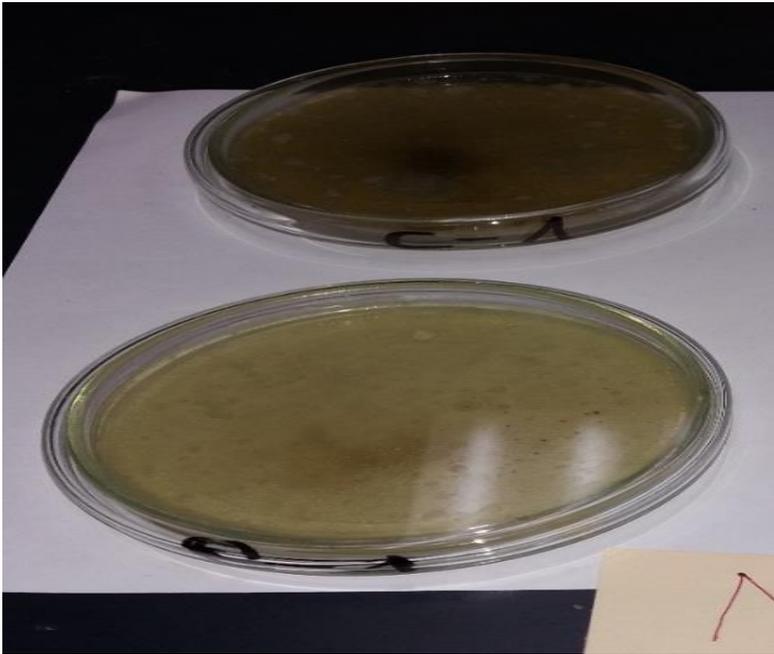
Primera
Dilución 10^1



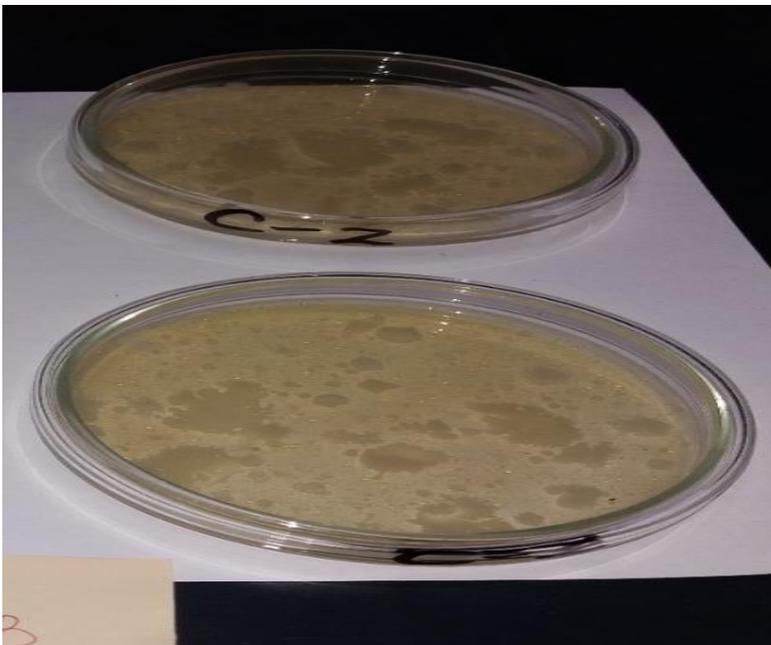
Segunda
Dilución 10^2



MUESTRA 3



**Primera
Dilución 10¹**



**Segunda
Dilución 10²**

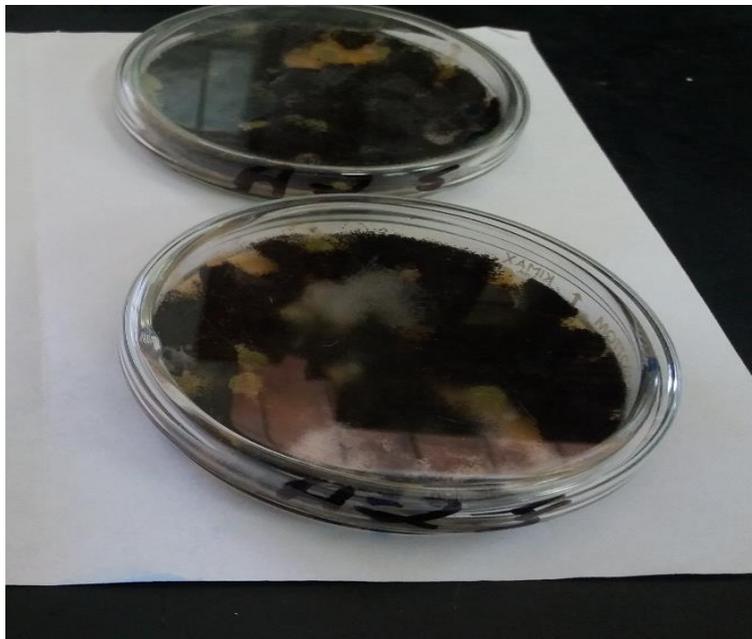


RESULTADOS DE RECuento DE HONGOS Y LEVADURAS

MUESTRA 1



**Primera
Dilución 10¹**



**Segunda
Dilución 10²**



MUESTRA 2



**Primera
Dilución 10¹**



**Segunda
Dilución 10²**



MUESTRA 3



**Primera
Dilución 10¹**

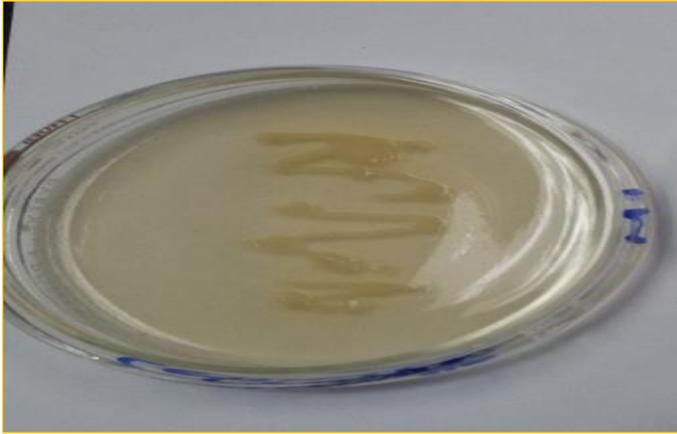


**Segunda
Dilución 10²**

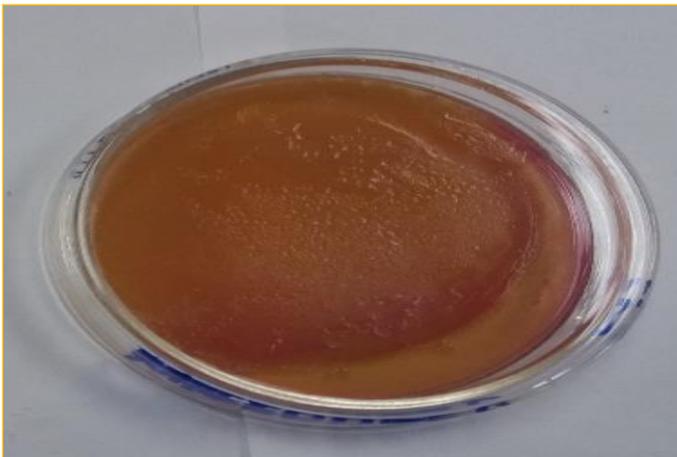


RESULTADOS PARA MICROORGANISMOS ESPECIFICOS

MUESTRA 1



Cetrimide



MacConkey



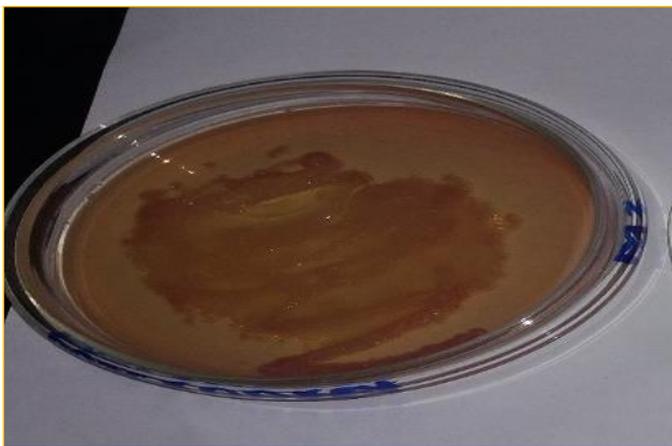
Baird Parker



MUESTRA 2



Cetrimide



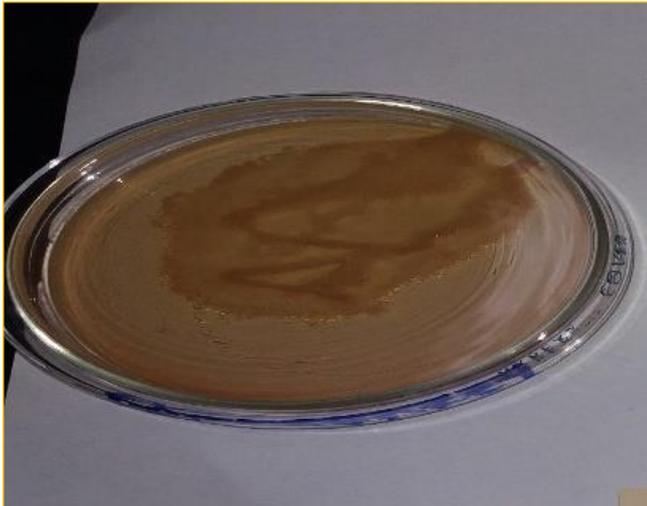
MacConkey



Baird Parker



MUESTRA 3



Cetrimide



MacConkey



Baird Parker



RESULTADOS SELENITO



RESULTADOS TSI



Muestra 1



Muestra 2



Muestra 3



RESULTADOS DE MACCONKEY A EMB



Muestra 1



Muestra 2



Muestra 3



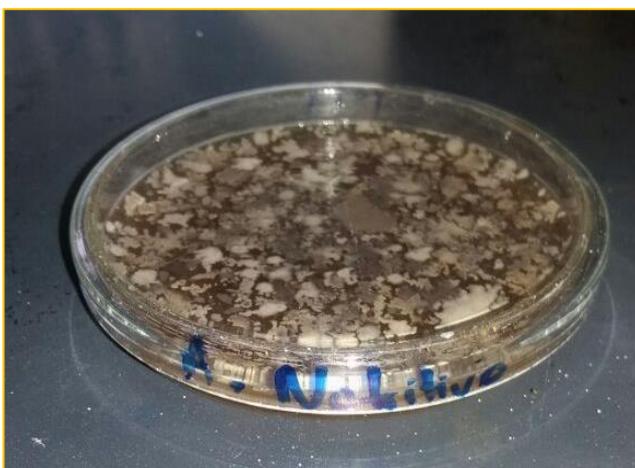
RESULTADOS DE XLD DE LA MUESTRA 3



RESULTADOS DE LA PRUEBA DE EQUIVALENCIA DE LOS MEDIOS DE CULTIVO



Medio de cultivo establecido por la Farmacopea: Agar digerido de Caseína Soja



Medio de cultivo utilizado: Agar Nutritivo