

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua
Unan – León
Facultad de Ciencias Químicas
Escuela de Farmacia
Departamento de Análisis de Drogas y Medicamentos.**



Tema: Ensayo Microbiológico en Cápsulas de *Morinda citrifolia* L. (Noni) comercializadas ambulatoriamente en la Ciudad de León en el mes de Febrero del 2008.

Monografía para optar al Título de Licenciado Químico Farmacéutico.

Autores:

**Br. Francis Maria Cerda Altamirano
Br. Mabelkis Oneyda Chavarria Rojas
Br. Claudia de los Angeles Corea Centeno**

Tutor:

Msc. Lisseth Araúz

León , 2008.

Índice

Tema.....	Pág. 1
Agradecimiento.....	Pág. 2
Dedicatoria.....	Pág. 3
Introducción.....	Pág. 4
Objetivos.....	Pág. 6
Marco Teórico.....	Pág. 7
Diseño Metodològico.....	Pág. 51
Procedimiento.....	Pág. 52
Equipos y Reactivos.....	Pág. 53
Resultados.....	Pág. 54
Análisis de Resultados.....	Pág. 55
Conclusión.....	Pág. 57
Recomendaciones.....	Pág. 58
Bibliografía.....	Pág. 59
Anexo.....	Pág. 62

Índice

Tema.....	Pág. 1
Agradecimiento.....	Pág. 2
Dedicatoria.....	Pág. 3
Introducción.....	Pág. 4
Objetivos.....	Pág. 6
Marco Teórico.....	Pág. 7
Diseño Metodològico.....	Pág. 33
Procedimiento.....	Pág. 34
Equipos y Reactivos.....	Pág. 35
Resultados.....	Pág. 36
Análisis de Resultados.....	Pág. 37
Conclusión.....	Pág. 39
Recomendaciones.....	Pág. 40
Bibliografía.....	Pág. 41
Anexo.....	Pág. 44

Ensayo Microbiològico en càpsulas de *Morinda citrifolia L* (Noni) comercializadas ambulatoriamente en la ciudad de Leòn, en el mes de Febrero del 2008.

TEMA:

Ensayo microbiològico en càpsulas de *Morinda citrifolia L*. (Noni) comercializadas ambulatoriamente en la ciudad de León, en el mes de Febrero del 2008.

Agradecimiento

Este trabajo investigativo fue posible gracias a la ayuda de:

- ❖ Nuestra tutora Msc: Lisseth Araùz quien nos brindó su ayuda y nos transmitió sus valiosos conocimientos, los cuales fueron de gran importancia para la realización de nuestro trabajo monográfico.
- ❖ David Espinoza, por habernos dedicado parte de su tiempo y cooperación durante se llevó acabo nuestro ensayo.
- ❖ Todos los docentes que nos brindaron su sabiduría a lo largo de nuestra preparación profesional en la Facultad de Ciencias Químicas.

Dedicatoria

- ❖ **A Dios:** Por su amor incondicional que nos permite despertar cada día, darnos las bendiciones y fuerzas para cumplir con todos nuestros propósitos.
- ❖ **A nuestros padres:** Por su dedicación, comprensión y amor que nos motivaron a salir adelante venciendo todos los obstáculos y así lograr nuestra formación.
- ❖ **A nuestros amigos:** Por ser las personas que compartieron con nosotras los momentos más alegres así como los momentos más difíciles.
- ❖ **A nosotros mismos:** Por haber logrado con responsabilidad y dedicación la culminación de nuestra carrera.

1. Introducción

Los productos naturales y herbarios se han utilizado desde hace muchos años en todo el mundo. La comunidad científica, antes escéptica, a comenzado a demostrar cada vez más interés en estos productos, a la vez que sus beneficios se dan a conocer por diferentes medios de comunicación.

El Noni llegó a Cuajinicuilapa comunidad de San Francisco del Norte, Chinandega-Nicaragua. Creció en estas áridas tierras como crecen las plantas silvestres y con el tiempo los productores se enteraron que lo que había llegado a sus tierras era un fruto milagroso y además una gran oportunidad para ellos.

Muchas empresas alrededor del mundo se han interesado en la fabricación y comercialización de productos a base de Noni en distintas formas de presentación debido a las propiedades medicamentosas del mismo y su impacto positivo en la sociedad.

Se han realizado algunos estudios internacionales sobre *Morinda citrifolia L*, entre los más mencionados están:

- 1) La Xeronina y la regeneración de las células; Dr. Ralph Heinicke Keronina.
- 2) Actividad anticancerígeno de la *Morinda citrifolia L* en el carcinoma intraperitoneal de Lewis Lung implantado en ratones singénicos. A. Hirazumi, E. Furusawa, S.C. Chou & Y. Hokama, Proc. West. Pharmacol. Soc. 37: 145-146 (1994).
- 3) Inducción de fenotipos normales en células transformadas RAS por Damnacanthal *Morinda citrifolia L*, T.Hiramaysu, M. Imoto, T. Koyano, K. Umezawa cartas sobre el cáncer 73 (1993) 161-166.

En las fuentes bibliográficas consultadas se encontró en León un estudio sobre las características del jugo de Noni:

1) Determinación de características Fisicoquímicas del Extracto Natural Pasteurizado a Base de *Morinda citrifolia L*, Cadena M, Valladares F. León, abril 2005.

2) Determinación del Límite microbiológico al jugo de *Morinda citrifolia L*. (Noni) con mayor demanda en Farmacias y/o centros naturistas de la ciudad de León, Andino Alan, Espinoza Walter, Lagos Ariel. Enero 2007.

La mayor parte de la población Nicaragüense carecen de conocimientos acerca de las propiedades medicamentosas del Noni y su uso racional dirigidos al mejoramiento de la salud sin embargo, actualmente está siendo utilizada por alguna parte de la población que ha tenido acceso a ésta información y además se conoce de que está siendo cultivada y procesada artesanalmente en diferentes ciudades de nuestro país, para luego ser utilizadas por la población.

Estudios realizados por distintos investigadores y científicos han demostrado las maravillosas cualidades de la *Morinda citrifolia L.* (Noni) atribuyéndole muchos efectos benéficos sobre el cuerpo humano, destacándose: problemas de huesos y de articulaciones, problemas en la función renal, cáncer, sistema digestivo, etc.

La mayoría de los productos a base de Noni no se les realiza ningún control microbiológico pudiéndose presentar así problema en la salud de estos pacientes. Debido a esto, es que nosotros realizamos este trabajo con el propósito: Realizar el control microbiológico de las càpsulas de Noni (actualmente con más demanda que el jugo) comercializado ambulatoriamente en la ciudad de León.

2. Objetivos

Objetivo General

- Determinar el límite microbiano en las càpsulas de Noni comercializadas ambulatoriamente en la ciudad de León.

Objetivos Específicos

- Cuantificar la presencia de Bacterias aerobias mesófilas.
- Identificar presencia de microorganismos patógenos: *Staphilococcus áureus*, *Pseudomona aeuruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*
- Evidenciar la presencia de Hongos y Levaduras.

3. Marco Teórico

3.1 El Noni

Nombre científico: *Morinda citrifolia* Linn.

Nombre Común: Noni, mora de india, ruibarbo, caribe, hog Apple, wild pine, mengkoedoe, indian mulberry.

Clasificación Taxonómica de la planta:

Reino	-----	Plantae
Filo	-----	Magnoliophyta
Clase	-----	Magnolipsida
Orden	-----	Rubiales
Familia	-----	Rubiaceae
Género	-----	Morinda
Especie	-----	Citrifolia

Lugar de Origen: Polinesia, Malasia, India, Australia.

Etimología: Morinda del latín morus = mora e indo = relativo a la india, por el parecido del fruto a una mora y su procedencia.

Citrofolia del latín citrifolius- a – um: con hojas parecidas a las de un cítrico (citrus).

Descripción botánica: Arbolito o arbustos siempre verde de hasta 6 metros de altura, con la corteza pàlida y lisa, hojas opuestas, de estrecha o anchamente elípticas de 15 a 25 cm de longitud agudas o acuminadas, de color verde brillante con estipulas grandes. Flores aromáticas dispuestas en cabezuelas globosas densas, tienen el cáliz truncado y la corola tubular, de color blanco. Fruto en masa casi esférica, verdosa de 2.5 a 3.5 cm de diámetro, con la superficie cubierta de pequeñas protuberancias, cada una de las cuales representan una flor y contienen una semilla.

La fruta madura es aproximadamente el mismo tamaño de una papa, y tiene un color amarillo que se transforma en blanco al madurar, tiene un sabor amargo y no huele muy bien.

El Noni es una planta que se adapta con facilidad en suelos salitrosos con alturas de hasta 500 metros sobre el nivel del mar, por eso soporta las temperaturas costeras y hasta nace en tierras volcánicas. La colecta de una semilla se logra del fruto maduro, la cual se extrae y se coloca en una zaranda al aire libre, donde se frota hasta que cae toda la pelusa eso permite que la germinación sea más rápida, aunque debido al proceso de secado también se puede almacenar para el cultivo posterior.

3.1.1 Componentes químicos del fruto del Noni:

Agua.

Aminoácidos: (que incluye alanina, arginina, ácido aspártico, cisteína, cistina, glicina, glicina, ácido glutámico, histidina, leucidina, isoleucina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina).

Acido capròico y caprìlico: Son ácidos grasos, responsables del agudo olor a rancidez de la fruta.

Escopoletina: Dilata los vasos sanguíneos permitiendo el paso de sangre más rápidamente, lo cual da como resultado niveles de presión más bajos, además mata una variedad de especies bacterianas y se le considera como eliminadora del hongo *Pythium sp.* Se le han observado propiedades antiinflamatoria e inhibidora histáminica.

Aceites esenciales.

B-D-Glucopiranososa pentaacetato 2.

Asperulosida tetraacetato.

Glucosa.

Proxeroninasa: Enzima que ajuda en la digestió i absorció de nutrients. És també antiinflamatori, ajuda particularment en la inflamació de les òrgans sexuals femenines en condicions com calambres, endometriosis, etc.

Xeronina: Alcaloide que activa proteïnes inactives o regula la rigides i la forma de proteïnes ja actives.

Damnacanthal: Inhibidor de la funció RAS (cèlules RAS precursoras de molts creiximents malignos).

Acido ascòrbic: Excelent font de vitamina C.

Flavonoides: Conté 10 flavonoides diferents. Els flavonoides són substàncies de pigmentació de les fruites i les vegetals. Ayuden en la reparació de les capilars, són antiinflamatoris i antivirals.

Quercitin: Flavonoides que repara les vasos sanguïnes i és antiinflamatori millora condicions de vèrtes i hemorroides.

Calcio: Mineral necessari per a la formació, creixement i manteniment de huesos i dents fortes. Intervé en les funcions musculars, és important en la coagulació sanguïna, en la activació de enzims per al funcionament normal del organisme.

Hierro: Important per al creixement, és indispensable per al transport de oxigen al cos, contribue a un millor desenvolupament físic i mental. Previene i combat la anèmia.

Zinc: Mineral important per al creixement. Intervé en la cicatrització, participa en la defensa del organisme contra les malalties i és important en la salut de la pell. La deficiència de zinc afecta l'apetit, el gust i l'olfat.

Proteïnes: Indispensables per al funcionament del organisme per que forma les cèlules.

3.1.2 Usos farmacològicos del Noni.

El Noni ha sido utilizado para tratar lo siguiente:

Sistema digestivo: Diarrea, parásito intestinal, indigestión, úlceras estomacales.

Infecciones e inflamaciones de la piel: Abscesos, carbunclos, forúnculos, abrasiones, barros, heridas e infecciones.

Afecciones internas: Diabetes, presión sanguínea elevada, dolor de cabeza, riñones y vejiga.

Problemas de los huesos y articulaciones: Artritis, huesos quebrados, torceduras.

Infecciones bucales y de la garganta: Encías inflamadas y dolidas, garganta inflamada con tos, afta, gingivitis y dolor de muelas.

Infecciones del pecho: Tos, tuberculosis, afecciones respiratorias, asma.

Efectos del envejecimiento: Se da como tónico saludable para tratar los efectos generales del envejecimiento.

Problemas de mujeres: Parto y preñez, calambres menstruales, regulación del flujo menstrual.

Fiebre: Fiebre con vómitos y gripe.

Otras afecciones: Problemas con los ojos y tumores.

3.1.3 Efectos secundarios o negativos del Noni.

En general, no se conocen efectos secundarios o negativos del Noni, pero siempre existe la posibilidad que a una persona le reaccione diferente a otra. Si es la primera vez que consume Noni, tenga en cuenta que puede tener un efecto de leve soltura intestinal. Se ha reportado que el Noni puede causar estreñimiento en caso de tomarlo en exceso. Se recomienda que cada tres

meses, se deje de consumir Noni por 10 días. Recuerde, todo en exceso es malo. El Noni tiene alta concentraciones de potasio por lo que debe tomarse en cuenta en pacientes con Hiperpotasemia.

Síntomas Clínicos de Hiperpotasemia

Localización	Síntomas
Sistema Músculo Esquelético	Parestesia Debilidad Muscular Parálisis Flácida Parada Respiratoria
Corazón	Alteraciones ECG: -Ondas T altas y picudas en derivaciones Precordiales(K \geq 6.5Mmeq/l) -Prolongación espacio PR(K:7-8meq/l) -Perdida de onda P(K:7.5-8meq/l) -Ensanchamiento QRS(K:7.5-8meq/l) -QRS converge con onda T(K \geq 8meq/l) -Fibrilación Ventricular -Parada Cardiaca -Arritmias ventriculares(cualquier concentración)
Sistema Renal	Acidosis Tubular Renal Iv Inhibe amonio génesis Renal Inhibe la Reabsorción de Amoniacó
Sistema Endocrinológico	Estimulación de Aldosterona Inhibición de renina Estimulación de Insulina Estimulación de Glucagòn

3.1.4 Como funciona el Noni.

1. Proxeronina:

Este primer componente es una larga molécula que se encuentra en algunos tejidos pero no es abundante en nuestro cuerpo por lo que se debe proveer por medio de una dieta. La proxeronina se encuentra disponible en el fruto de la planta *Morinda citrifolia L*. Comúnmente llamada Noni, en cantidades importantes, siendo la mejor fuente de proxeronina conocida hasta ahora.

2. Proxeroninasa:

El segundo componente, la enzima llamada proxeroninasa, se encuentra disponible en gran variedad de frutas y vegetales. No solo se encuentra dentro del cuerpo sino también en la superficie de la piel.

3. Reacción de los componentes:

Cuándo se toma la cápsula de Noni, se ubican los dos componentes anteriores en su cuerpo, la proxeronina y la proxeroninasa. La fase está lista para la producción de xeronina.

4. Empieza el proceso:

Dentro del cuerpo el proceso de producción de la xeronina comienza por la combinación de la proxeronina con la proxeroninasa.

5. Proxeronina se enlaza:

La molécula alargada de proxeronina se enlaza con la enzima proxeroninasa.

6. Un solo cuerpo:

Después de un proceso químico complejo, los extremos de la molécula alargada de proxeronina se sueldan para formar un cuerpo sólido.

7. Xeronina:

La cadena central que se forma se corta y se separa formando así la xeronina.

8. Proteínas:

Sin la xeronina, las proteínas formadas de las conexiones entre aminoácidos, se encuentran inactivas. Las proteínas son esenciales para la vitalidad de las células dentro de nuestro cuerpo. Solamente cuándo se combinan con la xeronina se convierten en componentes activos para la salud y el bienestar de nuestro cuerpo.

9. Receptáculo:

Cada proteína, tal y como es formada, crea un receptáculo adecuado para aceptar la xeronina. Hasta hace muy poco tiempo, una fuente comprobada de proxeronina no se conocía. Los alimentos convencionales debido a la reducción de impurezas y a los procesos de producción, adolecen de los niveles necesarios de proxeronina.

Así que vemos que de la combinación de la proxeronina, componente que debe estar suministrado por el consumo de alimentos y que se encuentran en abundancia en el jugo de Noni y la proxeroninasa, enzima que se encuentra en nuestro cuerpo abundantemente, resulta la xeronina que es un ingrediente esencial para nuestra salud y nuestro bienestar.

10 . Herramienta poderosa:

Cuando se combina con la xeronina, se convierte la proteína en una herramienta poderosa para la estructura de nuestro cuerpo ya que produce energía y envía señales químicas entre las células para su normal crecimiento y mantenimiento. Debemos entender que la producción de xeroninas es un proceso delicado y complejo que si llega a faltar una pequeña parte, se desestabiliza; es decir que si falta la proxeronina que es de por si escasa y más importante de los componentes en este proceso, entonces nada ocurre.

3.2 Pasteurización:

3.2.1 Concepto: Tratamiento que consigue la destrucción de microorganismos sensibles al calor. Su nombre se debe a Luis Pasteur, que utilizó el calor por primera vez para controlar el deterioro del vino. Pasteurización no es sinónimo de esterilización, porque no destruye a todos los microorganismos.

En la pasteurización se emplean temperaturas inferiores a 100°C , suficiente para destruir las formas vegetativas en un buen número de microorganismos patógenos y saprofitos. Las bacterias esporuladas otras denominadas termodúricas resisten, normalmente, a este proceso. Muchos alimentos, sobre todo bebidas, se pasteurizan; la leche es el ejemplo más clásico. Sin embargo, los alimentos pasteurizados son inocuos debidos a la posibilidad que contengan microorganismos supervivientes, su caducidad es corta y requiere ser conservados en fríos.

En los Estados Unidos, la federación de drogas y alimentos (FDA) recomienda que todos los jugos de frutas sean pasteurizados. Actualmente 98 % de los jugos en los Estados Unidos son pasteurizados para matar cualquier bacteria dañina que podría haber crecido durante el proceso de recolección del fruto o embotellamiento.

3.3 Métodos de procesamiento del Noni:

Existen muchas maneras como los productos Noni son procesados y traídos al mercado. Entre los métodos más comunes se encuentran:

1. El método de jugo:

El jugo de Noni es recolectado cuándo está maduro o remaduro, casi por pudrirse.

El fruto es puesto en largas telas mecánicas para que el jugo gotee y sea recolectado por medio de tubos.

El jugo es limpiado y embotellado sin añadir sabores, azúcares ni espesadores. Estos productos normalmente ponen “100 % puro jugo Noni” en sus etiquetas,

2. El método de puré:

El fruto entero es creado para producir el jugo. Tal como con el método de 100 % jugo Noni, el fruto es recolectado completamente maduro. El jugo es machucado finamente, las semillas son extraídas, y el fruto es hecho un puré líquido. Ya que éste puré es grueso, es necesario usar jugos con sabores para hacerlo líquido, con buen sabor, y con la correcta consistencia antes de embotellarlo, Este producto debe de pasar un proceso de pasteurización para mayor seguridad.

3. Las tabletas y cápsulas:

El fruto Noni es colectado cuándo está maduro. El fruto pasa por un proceso de deshidratación o secado que remueve la mayoría del agua contenida en el fruto. El fruto típicamente pasa por un proceso de radiación para matar las bacterias dañinas. El producto es hecho polvo y puesto ya sea en cápsulas o tabletas.

4. Jugo de Noni hecho de Noni en polvo:

El jugo Noni es generalmente recolectado cuando esta maduro. Para remover la mayor parte del agua este es deshidratado, posteriormente es irradiado y hecho polvo para añadirlo a soluciones líquidas con agentes saborizantes, azúcares y espesadores.

3.4 Factores determinantes de la calidad microbiológica

Intrínsecos:

- Naturaleza de la planta y barreras naturales.
- Estructura de la planta.
- Composición de la planta (compuestos antimicrobianos).
- Contaminación intracelular microbiana.

Extrínsecos:

- Clima
- Humedad.

- Ubicación / Posición.
- Método de cosecha.
- Poscosecha.
- Estado físico.
- Tratamiento tecnológico.
- Empaque / Almacenaje.
- Contaminación bacteriana exógena.

3.5 Análisis microbiológico:

Materia prima (periodo PRE y pos cosecha). Los productos Fito terapéuticos son obtenidos a partir de plantas cultivadas o silvestre por tal motivos las probabilidades de contaminación microbianas son altas. Un apropiado proceso de recolección, cosecha, corte y almacenamiento es esencial para garantizar la calidad de los mismos.

Entendemos por cultivo de microorganismo el proceso que induce su crecimiento. Para cumplir la mayoría de la finalidades de la microbiología, se cultivan en in Vitro (del latín vitrun = vidrio, es decir, en matraces, tubo de ensayo y otros recipientes de vidrio. En la actualidad los frascos de cultivos pueden ser de plástico o acero.

Para este tipo de cultivo es indispensable la preparación de soluciones, u otras formas de materiales que los microorganismos pueden utilizar como alimento.

Mesófilos:

Muchas especies del suelo, del agua y del cuerpo crecen bien a temperaturas que oscilan entre 10°C y 45°C . No obstante sus temperaturas optima de crecimiento son cerca de 30°C y 45°C , y varían según las especies. Las que se desarrollan bien se denominan mesófilas (del griego meso = mitad o medio, Philie = elegir).

Aerobio:

Microorganismo capaz de crecer o metabolizar en presencia de oxigeno libre.

Anaerobio:

Microorganismo capaz de crecer o metabolizar en ausencia de oxígeno libre, puede ser obligado (es decir morirán en presencia de oxígeno) o facultativo (crece en ausencia o presencia de oxígeno).

Los microorganismos para su estudio se agrupan en el reino protista y al clasificarlos se mantiene la clasificación hecha por D.Bergeys, que los ubica en familias, tribus, género.

Para este estudio resulta de interés las familias:

- Enterobacteriaceae.
- Microcaceae.
- Pseudomonadaceae.
- Hongos verdaderos.

Familia Enterobacteriaceae:

Los microorganismos integrantes de estas familias se distinguen porque en su mayoría habitan en el conducto intestinal del hombre y animales inferiores de ahí su nombre.

Son fermentadoras activas de la glucosa y lactosa, reducen los nitratos a nitritos, fácilmente cultivables en una gran variedad de medios, a temperaturas que oscilan entre 25c a 37c. Las especies móviles están flageladas de modo peritrico, algunos microorganismos de la familia producen peptinasa; evidentemente no se puede utilizar una sola prueba bioquímica, o una propiedad fisiológica única para identificar a cualquier miembro de la familia.

Forma bacilar no esporogénea, son gran negativos, aerobios, algunas especies son patógenas primarias peligrosas, que ocasionan fiebre tifoidea, disentería, diarrea infantil e infecciones del conducto urinario y otros órganos, además existen otras especies parásitas de plantas que provocan marchites y podredumbres ligeras. Los géneros que integran estas familias son: Salmonella, Serratia, Erwinia, Proteus, Shiguella, Escherichia, Aerobacter, Klebsiella, Peptobacterium.,

Género Escherichia :

Es un género muy esparcido en la naturaleza, entre su especie la más importante es la *Escherichia coli*, que es la especie más genuinamente fecal, y se encuentra siempre en el conducto intestinal del hombre y de los animales, es por eso que su presencia en los alimentos o en las aguas puede ser inicio de contaminación fecal.

La *Escherichia coli*, puede causar problemas graves al invadir la vejiga urinaria y la pelvis renal produciendo cistitis, y pielitis respectivamente.

Género Salmonella :

El género Salmonella consiste en células de forma bacilar habitualmente móviles capaces de utilizar el citrato como fuente de carbono; la mayoría de estas cepas son aerógenas.

Además uno de los más importantes de la familia reúne muchas especies patógenas que provocan algunas enfermedades tales como; tifus, alteraciones gastrointestinales (salmonelosis), septicemia (invade la sangre), fiebre tifoidea y paratifoidea, etc.

Salmonelosis: Enfermedad provocada por Salmonella que va desde un dolor intestinal leve hasta enfermedad fatal.

Dentro de las características diferenciales de la Salmonella utilizaremos como ejemplo la *Salmonella thypi*, siendo esta: xilosa variable; tehalosa y sulfuro de hidrógeno positivo; arabinosa, agar citrato y gas en dextrosa, indol negativo.

Familia Microcaceae :

Las Microcaceae, son Gram. positivos, no formadores de esporas y principalmente saprofitas que viven libremente, suelen ser esféricas o esferoidales y se dividen en dos o tres plantas, algunas veces formando acumulo o masa de cocos semejantes a racimos de uva o bien grupos aplanados, cuadrados de cuatro elemento.

La familia incluye los, géneros *Micrococcus*, *Sarcinas*, *Estaphylococcus*, *Methanococcus* y *Peptococcus*.

Género *Staphylococcus* :

Este género microscópicamente suele confundirse con micrococcus, su representante forma masas irregulares, aunque casi siempre se agrupa en racimos. La diferencia entre estos géneros se aprecia en la capacidad que tiene *Staphylococcus* de fermentar o utilizar la glucosa, el manitol y el piruvato en condiciones anaerobias. De ahí se plantea que esta familia agrupa microorganismos aerobios facultativos.

Se encuentra fácilmente en la piel, membranas, mucosa de nariz y boca, heridas infectadas, etc. Donde aparecen en grandes cantidades aun en condiciones normales.

Hay dos especies principales: el *Staphylococcus aureus* que se distingue por su pigmento dorado, es notorio como productor de enfermedades supurativas.

El *Staphylococcus epidermidis* es menos patógeno o comensal de la piel y de las membranas mucosas.

Dentro de las características diferenciales podemos mencionar las correspondientes al *Staphylococcus epidermidis* las cuales son las siguientes: no fermenta el manitol, ni produce coagulasa, toxina alfa o lipasa; la licuefacción de la gelatina es lenta o no existe; la hemólisis es discreta o ausente.

Familia *Pseudomonadaceae*:

Son de origen marino y toleran altas concentraciones de sal. Numerosas especies de estas familias producen pigmentos azules, verdes y amarillos, solubles en el agua y difusibles y a veces fluorescentes.

Genero *Pseudomonas*:

Es una bacteria polimorfitas Gram negativas, móvil, es aerobio obligado, se desarrolla a temperaturas optimas de 37°C . Pero incluso puede crecer a los 40- 41°C . Sucumbe a 60°C . A una hora, es sensible a los desinfectantes.

En condiciones naturales la *Pseudomona aeruginosa* habita en el suelo, el agua y las plantas, pero a veces se aísla en los pacientes con quemaduras, así como en heridas infectadas y en la uretra.

En el hombre provoca procesos supurativos locales o generalizados: otitis, pielitis, cistitis, queratitis, meningoencefalitis y septicemia. Los niños pequeños y debilitados son los más susceptibles a la infección por *Pseudomonas*. En los enfermos afectados por esta bacteria el pus y las vendas se colorean de azul verdoso.

3.6 Límite Microbiano

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

El límite microbiano, es un conjunto de pruebas cuyo objetivo es evaluar la calidad sanitaria de los productos farmacéuticos (materias primas, productos intermedios y terminados), mediante el recuento de organismos mesófilas, hongos filamentosos y levaduras; así como la investigación de microorganismos objetables en dichos estudios.

3.6.1 Niveles microbianos:

Las recomendaciones sobre la calidad Microbiológica de los fitos medicamentos se encuentran dadas en el texto sobre Calidad Microbiológica de las preparaciones farmacéuticas (farmacopea británica armonizada, apartado 5.1.4 categoría 4) La categoría 4 es para Fito medicamentos que contienen uno o mas drogas.(ya sean enteras o fragmentadas o en polvos) y se dividen en 2 categorías:

1) Fitos Medicamentos a los que se les añade agua hirviendo antes de su uso:

- Conteo total de Aerobios. No mas de 10^7 bacterias aeróbicas y no mas de 10^5 hongos /g o por ml
- No mas de 10^2 *Escherichia coli*/g o por ml utilizando las diluciones apropiadas.

2) Fitos medicamentos a los que no se les agrega agua hirviendo antes de utilizarse.

- Conteo total de aerobios. No más de 10^5 bacterias aeróbicas y no mas de 10^4 hongos/G o por ml.
- No más de 10^3 enterobacteria y ciertos otra Gram. Negativo/g o por ml.
- Ausencia de *Escherichia coli* (1g o 1ml).
- Ausencia de *Salmonella* (10g o 10ml).

3.6.2 Pruebas Preliminares:

La validez de las prueba descansa fundamentalmente en la demostración de que las muestra bajo ensayo, no inhibe el crecimiento de microorganismo que puedan estar presentes. Por lo tanto previo a la realización de límite microbiano y de acuerdo a como lo requieren las circunstancia, es necesario inocular porciones diluidas de la muestra con diferentes cultivos, tales como:

- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*
- *Pseudomona aeruginosa*
- *Candida albicans*
- *Aspergillus niger*
- *Salmonella spp*

3.6.3 Factores que afectan el límite microbiano:

Temperaturas de las incubadoras

La temperatura a la cual son sometidos los platos con los medios específicos para el crecimiento de los microorganismos es de mucha importancia ya que un aumento o disminución de esta puede impedir el crecimiento por no presentar condiciones óptimas para su desarrollo.

PH para los medios de cultivo:

De igual forma una variación ya sea aumento o disminución del pH óptimo de un microorganismo interfiere de forma significativa en el desarrollo de éstos, por tanto se debe comprobar el pH del medio al cual se va a someter una muestra.

Deficiente lavado y esterilización de la cristalería.

El lavado y la posterior esterilización de la cristalería en la cual se va a trabajar debe hacerse de forma eficiente, bajo condiciones asépticas de modo que no queden residuos de cloro y detergente ya que estos pueden interferir en el crecimiento de los microorganismos o provocar resultados erróneo.

El tiempo transcurrido desde la primera dilución hasta su incorporación en los medios de cultivos no deben de exceder a una hora.

3.6.4 Solución amortiguadora y medios.

Los medios de cultivos pueden prepararse como se indica a continuación, o bien pueden utilizarse medios de cultivo deshidratados, siempre y cuándo una vez reconstituidos según las indicaciones del fabricante o del distribuidor, contengan ingredientes similares y constituyen medios comparables a los obtenidos con las fórmulas proporcionadas aquí.

Para preparar medios según las fórmulas que se describen aquí, disolver los sólidos solubles en el agua, utilizando calor si fuera necesario, para lograr una

disolución completa y agregar soluciones de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio en cantidades suficientes para obtener el pH deseado en el medio cuando esté listo para ser utilizado. Determinar el pH a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Cuando la fórmula requiera agar, utilizar agar que no contenga más de 15 % de humedad. Cuando la fórmula requiera agua, utilizar Agua Purificada.

3.6.5 Solución amortiguadora de fosfato de pH 7.2.

Solución madre/disolver 34 g de fosfato monobásico de potasio en aproximadamente 500 ml. de agua en un matraz volumétrico de 1000 ml. Ajustar a un pH de 7.2 ± 0.1 agregando hidróxido de sodio SR (aproximadamente 175 ml), agregar agua a volumen y mezclar. Verter en recipientes y esterilizar, Almacenar bajo refrigeración. Para su uso diluir la Solución Madre con agua en una proporción de 1 a 800 y esterilizar.

3.6.6 Medios .

A menos que se indique algo diferente en la etiqueta del medio de cultivo, éstos deben esterilizarse en un autoclave de 15 a 25 minutos a 120°C .

Los medios a utilizar son:

- Medio Líquido de Digerido de Caseína-Lecitina de Soja-Polisorbato 20.
- Medio Agar con Digerido de Caseína-Soja.
- Medio Líquido de Digerido de Caseína-Soja.
- Medio Manitol-Agar Salado.
- Medio Agar de Baird-Parker.
- Medio Agar de Vogel-Johnson.
- Medio Agar Cetrimida.
- Medio Agar Pseudomonas para la Detección de Fluoresceína.
- Medio Agar Pseudomonas para la Detección de Piocianina.
- Medio Líquido de Lactosa.
- Medio Líquido de Selenio-Cistina.

3.6.7 Muestreo

Proporcionar muestras de 10 ml. o 10 g . para cada una de las pruebas requeridas en la monografía correspondiente.

3.6.8 Procedimiento

Preparar la muestra 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 pruebas que se deben llevar acabo.

En el caso de sólidos que se disuelven en gran medida pero no totalmente, reducir las sustancias a un polvo moderadamente fino, suspenderlo en el vehiculo especificado y proceder según se indica en 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 muestras líquidas que consisten en una solución verdadera o una suspensión en agua o un vehiculo hidroalcohòlico 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 a 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 *Pseudomona 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, 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 recuento total de microorganismos aerobios y en prueba para determinar la *staphylococcus aureus* Y *Pseudomona 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 aproximadamente 1 hora, abrir el envase, dejar que alcance la 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.

Cuándo no se pueden obtener 10 g o 10 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

procede a realizar la prueba a los residuos. Si los resultados de la prueba no fuera concluyente o dudosos, repetir la prueba con una muestra de 20 envases.

3.6.9 Recuento Total De Microorganismos Aerobios

En el caso de muestras que son lo suficientemente solubles o translucidas 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 g 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 líquido digerido de caseína-soja o medio líquido digerido de caseína - polisorbato 20 para obtener 100 ml. la muestra En el caso de muestras viscosas que no se pueden pipetear y transferir a esta dilución inicial de 1: 10, diluía hasta obtener una suspensión, es decir, 1: 500, 1:100, etc., que pueda pipetearse. Realizar la prueba para determinar la ausencia de propiedades inhibitoras según se describe en pruebas preparatorias antes de determinar el Recuento total de microorganismos Aerobios.

Agregar la muestra al medio a más tardar 1 hora después de preparar las diluciones apropiadas para inoculación.

3.6.10 Método En Placa

Diluir el líquido aun mas, si fuera necesario, para que 1ml. permita obtener entre 30 y 300 colonias. pipetear 1ml.de la dilución final y transferir a dos placas petri estériles. Agregar de inmediato, a cada placa, de 15 a 20ml. de medio agar digerido de caseína-soja, previamente fundido y enfriado

aproximadamente a 45°C, Cubrir las placas de petri, mezclar la muestra 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 una vez finalizada la incubación, examinar las placas para verificar el crecimiento, contar el numero de colonias y expresar el promedio de las dos placas en termino del numero de microorganismos por gramos o por ml de la muestra. en caso de no recuperarse colonias microbianas de las placas que representen la disolución inicial 1 :10 de la muestra, expresar los resultados como menos de 10 microorganismos por g o por ml de la muestra.

3.6.11 Prueba para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*

Agregar medio líquido de digerido de caseína-soja a la muestra para obtener 100ml, mezclar e incubar. examinar el medio para verificar el crecimiento y si hubiera crecimiento, utilizar un asa de inoculación para realizar estrías con una porción del medio sobre la superficie del medio Agar de Vogel-Johnson o medio Agar de Bair-parker o medio manitol Agar salado) y del medio Agar Cetrimide, cada de uno de ellos colocados en placa petri. Cubrir las placas, invertirlas e incubar. Si al examinarlas ningunas de las placas contiene colonias con las características enumeradas en la tabla 2 y 3 para los medios utilizados, la muestra de pruebas cumple con los requisitos de ausencia de *staphylococcus aureus* y *pseudomona aeruginosa* .

Prueba de coagulasa(para *staphylococcus aureus*).

Con la ayuda de un asa de inoculación transferir colonias sospechosas representativas, desde las superficies de Agar del MedioVogel-Jhonson (o Medio Agar de Bair Parker o medio Manitol Agar salado) a tubos individuales, que contengan cada uno 0.5ml de plasma de mamífero, preferentemente de conejo o caballo, con o sin aditivos adecuados. Incubaren 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*.

Prueba de oxidasa y de pigmentos (para determinar la ausencia de *pseudomona aeruginosa*)

Con la ayuda de un asa de inoculación realizar estrías de las colonias sospechosas representativas, tomadas de la superficie de agar del medio Agar Cetrimida, sobre las superficies de agar del medio Pseudomonas, Agar para la detección de flouescina y del medio Pseudomona Agar para la detección de piocianina contenida en la placa de petri.

Si debe transferirse un número grande de colonias sospechosas, dividir la superficie de cada placa en cuadrantes e 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 tres días. Examinarlas superficies estriada bajo luz U.V. Examinarlas placas para determinar colonias presentes con las características enumeradas en la tabla 3.

Por medio de la prueba de oxidasa confirmar si un crecimiento de colonia sospechosa en uno o mas medios corresponde a *pseudomona aeruginosa*. . una vez que haya tenido lugar el crecimiento de colonias colocar o transferir las colonias a tiras o discos de papel de filtros que se han impregnado previamente con diclorhidrato N,N-dimetil-p-fenilendiamina: si no aparece un color rosado, que se torna púrpura, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de *pseudomonas aeruginosa*, presencia de *pseudomonas saeruginosa* se puede confirmar mediante otra prueba bioquímica y de cultivo adecuadas, si fueran necesarios.

Tabla 1. Características morfológicas de *Staphylococcus aureus* en medio agar selectivo.

Medio Selectivo	Morfología Características de las colonias	Tinción de Gram.
Medio Agar de Vogel Johnson	Negro, rodeado de una zona amarilla	Cocos positivos en grupos
Medio Manitol Agar Salado	Colonias amarillas con zonas amarillas	Cocos positivos en grupos
Medio Agar de Baird - Parker	Negro, brillante, rodeados de zonas transparentes de 2 mm a 5 mm	Cocos positivos en grupos

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

Agregar ala muestra que esta contenida en un vaso adecuado, un volumen de medio liquido de lactosa para obtener 100 ml e incubar. Examinar el medio para verificar el crecimiento y, si hubiera crecimiento, mezclar agitando suavemente. pipetear porciones de 1ml y transferir a vasos que contengan, respectivamente, 10ml de Medio Liquido de Selenito-Cistina y de Medio

Líquido de Tetrionato, mezclar e incubar durante 12 a 24 horas conservar el remanente del medio líquido de lactosa .

Prueba para determinar la ausencia de *Salmonella spp*: Por medio de un asa de inoculación, realizar estrías de los Medios de Selenito-Cistina y de Tetrionato sobre la superficie del medio Agar con Sulfito de Bismuto contenido en placas de petri . Cubrir las placas, invertir e incubar. Al examinar las placas, si ninguna de las colonias se ajusta a la descripción que aparece en la tabla 2. La muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia del genero *Salmonella*

Tabla 2. Características morfológicas de *Salmonella spp* en medio agar selectivo.

Medio Selectivo	Morfología Características de las Colonias
Medio Agar Verde Brillante	Pequeñas, transparentes, incoloras o de color rosado a blanco opaco (frecuentemente rodeadas por una zona de color rosado a rojo).
Medio Agar con Xilosa-Lisina-Desoxicolato	De color rojo, con o sin centros negros
Medio Agar con Sulfito de Bismuto	De color negro o verde

Si se encuentran colonias de bastones gram- negativos que se ajustan a la descripción de la tabla2, proceder con una identificación adicional transfiriendo colonias sospechosas representativas individualmente, por medio de un asa de inoculación, a un tubo inclinado de medio Agar-TripleAzucar-Hierro estriando primero la superficie inclinada y luego clavando el asa bien 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 un ennegrecimiento concomitante de los extremos por producción de sulfuros de hidrógenos), la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia del genero *Salmonella* .

Prueba para determinar la ausencia de *Escherichia coli*: Con ayuda de un asa de inoculación, hacer estrías con una porción del medio líquido de lactosa restante sobre la superficie del medio agar de MacConkey. Cubrir las placas, invertirlas e incubarlas. Al examinar las placas, si ninguna de las colonias se ajusta a la descripción que aparece en la tabla 3 para este medio, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de *Escherichia coli*.

Tabla 3. Características morfológicas de la *Escherichia coli* en medio Agar de MacConkey y EMB.

Medio Selectivo	Morfología características de las colonias
MacConkey	De color rojo ladrillo, pueden tener una zona de bilis precipitadas alrededor.
EMB	De color negro con brillo verde metálico.

Si se encuentran colonias que se ajustan en la descripción que aparece en la tabla 3, proceder con una identificación adicional transfiriendo las colonias sospechosas individualmente, por medio de un asa de inoculación, a la superficie de medio Agar de Levine con Eosina-Azul de Metileno colocadas en placas de petri. Si se debe transferir un número grande de colonias, dividir la superficie de cada placa en cuadrantes y sembrar cada uno de ellos con una colonia diferente. Cubrir las placas, invertirlas e incubarlas. Al examinarlas, si ninguna de las colonias exhibe un brillo metálico característico bajo la 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 adecuados, si fuera necesario.

Recuento total combinado de hongos y levaduras.

Proceder como se indica en el método en placa el recuento total de microorganismos aerobios, excepto que se debe utilizar la misma cantidad de

Ensayo Microbiològico en càpsulas de *Morinda citrifolia L* (Noni) comercializadas ambulatoriamente en la ciudad de Leòn, en el mes de Febrero del 2008.

Medio Agar de Sabouraud o Medio Agar Papa Dextrosa, en lugar de Medio Digerido de Caseina-Soya y se deben incubar las placas de petri invertida durante 5 a 7 días a una temperatura de 20°C a 25 °C.

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 g, puede realizarse una nueva prueba en una muestra de 25 g del producto. Proceder como se indica en procedimientos teniendo en cuenta que la muestra es más grande.

Diseño Metodológico.

Tipo de estudio: Experimental

Área de estudio: Departamento de control de calidad de drogas y medicamento; situados en el segundo piso del edificio de la Facultad de Ciencias Químicas (Càmpus Medico-UNAN León), área de microbiología.

Universo: Cápsulas de Noni comercializadas ambulatoriamente en la ciudad de León perteneciente a las dos muestras analizadas.

Muestra: 4 frascos de cápsulas de Noni, por muestra.

Unidad de Análisis: Cápsulas de Noni.

Tipo de muestreo: De aceptación.

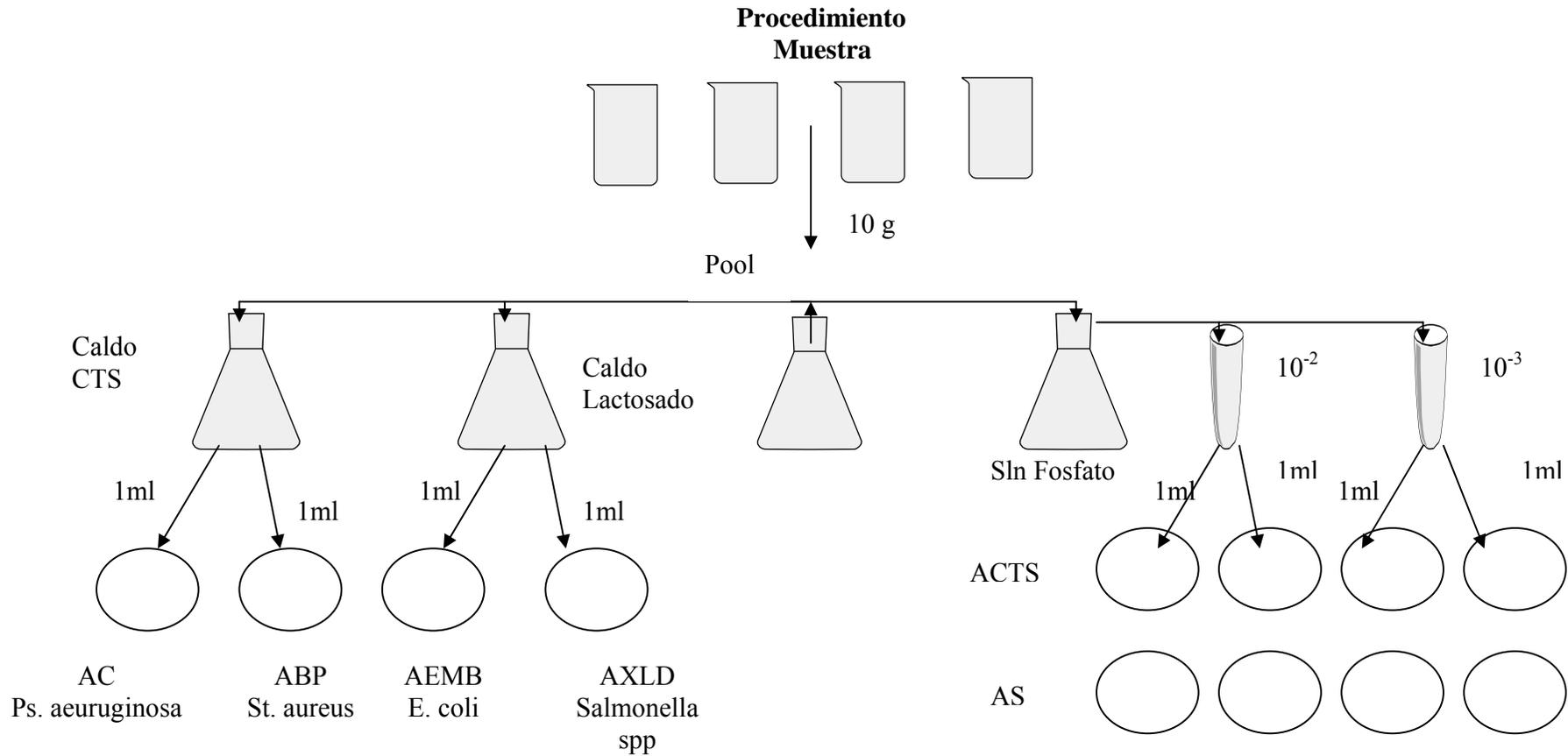
Procedimiento para la recolección de la muestra: Se realizó una entrevista (ver anexo) en los mercados de la ciudad de León para determinar las cápsulas de Noni que más demanda la población. Se compraron las muestras, posteriormente se realizó el análisis microbiológico. La etiqueta de las muestras utilizadas contenía solamente nombre comercial, indicaciones y fecha de vencimiento, careciendo de la información básica como el número de lote, fecha de elaboración, nombre del laboratorio y registro sanitario.

Criterios de inclusión:

- ❖ Comercializadas en la ciudad de León.
- ❖ Forma de presentación más demandada por la población.
- ❖ Marca más demandada por la población.
- ❖ Mercados y vendedores ambulantes.

Criterios de exclusión:

- ❖ Cápsulas comercializadas en las diferentes farmacias y centros naturistas de la ciudad de León.
- ❖ Cápsulas de Noni comercializadas fuera de la ciudad de León



No se obtuvieron colonias características

Procedimiento Muestra

CTS Caldo Tripticaseina soja
 XLD Xilosa Lisina Desoxicolato
 ABP Agar Bair Parker
 AC Agar Cetrimide
 AS Agar Saboroud
 AEMB Agar Eosina azul de Metileno
 ACTS Agar Tripticaseina soja

* El mismo procedimiento para la muestra 2.

Equipos y Reactivos.

Equipos y Cristalería	Reactivos	Material para esterilizar
Incubadoras (Precision) Cocina (Corning PC-100) Autoclave (All-American portable) Esterilizador (Precision) Balanzas(OHAUS 2610 g) Microscopio Contador de colonia (Darkfield québec). Refrigerador(Energyguide) Autoclave (Vernitron). Tubos de ensayo Erlenmeyer Platos petri Pipetas de 5 y 10 ml Mechero de Bunner Laminas y cubre objetos Asas de platino Gradillas Espátulas	Fosfato monobásico potásico. Caldo Lactosado Caldo tripticaseína soja Caldo Selenito Cistina Agar tripticaseína soja Agar Sabouraud Agar Cetrimide Agar EMB (Eosina azul de metileno) Agar Baird-Parker Agar XLD (Xilosa, Lisina y Desoxicolato)	Alcohol 70 % Algodón Cloro puro Detergente Guantes Jabón Papel de Aluminio

5. Resultados

Al efectuar el estudio sobre la determinación del límite microbiano bajo las condiciones necesarias, a cuatro frascos de cápsulas de Noni (*Morinda citrifolia L*) de mayor demanda por la población, comercializado ambulatoriamente en la ciudad de León, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tipo de Análisis Limite Microbiano	Resultado del ensayo		Especificaciones del la OMS.
	Muestra 1	Muestra 2	
Bacterias Aerobias Mesófilas.	76000 UFC/g	300 UFC/g	No más de 10^5 UFC / g
Staphylococcus aureus.	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Pseudomona aeruginosa.	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Escherichia coli.	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Salmonella spp.	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Recuentos de Hongos y Levaduras.	11,500 UFC/g	Menos de 10 UFC/g	No más de 10^4 UFC / g

Observación: Se encontraron Bacilos spp. Esporulados en ambas muestras.

6. Anàlisis de Resultados

En base a los resultados obtenidos de las càpsulas de *Morinda citrifolia* L. (Noni) observamos que:

- Para la identificación de Hongos y Levaduras, el medio utilizado fue Agar Dextrosa de Sabouraud, incubado por 3 días.
Muestra 1: Se evidenció crecimiento de colonias características.
Muestra 2: No se obtuvo crecimiento de dichas colonias.

La OEA tiene normado que cuándo no hay crecimiento de dichas colonias se debe reportar como menos de 10 UFC/g.

Muestras 1 y 2

- Al utilizar el medio de cultivo Agar Trypticaseína Soja, posterior al periodo de incubación de 48 horas no obtuvimos crecimiento de colonias, evidenciando la ausencia de Bacterias Aerobias Mesófilas.
- Para Bacterias Patógenas se utilizaron los medios de cultivos de Caldo Lactosado para *Escherichia Coli* y *Salmonella* spp y el Caldo Digerido de Caseína Soja para *Pseudomona aeuroginosa* y *Staphylococcus aureus*. La aparición de turbidez en la muestra, debido a las características físico químicas de las càpsulas dificulta determinar claramente la presencia o no de turbidez por lo que se cultivo en los medios selectivos respectivos.
- En el caso de *Escherichia coli* el medio selectivo empleado fue el EMB, la presencia de colonias verdes con brillo metálico integrado por bacilos Gram negativo indica la presencia probable de *Escherichia coli* . En las muestras no se encontraron colonias características, lo que manifiesta la ausencia de esta bacteria.
- El medio selectivo para *Salmonella* spp fue Agar Xilosa- Lisina Desoxicolato, la presencia de colonias rojas con o sin centros negros hace positiva la prueba. No se evidenció crecimiento de colonias características.
- Para *Pseudomona aeruginosa* se utilizo Agar Cetrimide, no encontrando posterior a la incubación la presencia de colonias verdes azulosas que con luz

Ensayo Microbiològic en càpsulas de *Morinda citrifolia L* (Noni) comercializadas ambulatoriamente en la ciudad de Leòn, en el mes de Febrero del 2008.

ultravioleta se observan de color verdoso fluorescente, lo cual demuestra la ausencia de esta bacteria en el ensayo.

- Para *Staphylococcus aureus* se utilizo el Agar Baird Parker, no se encontró colonias características (colonias negro brillante rodeadas de zonas claras de 2- 5 mm de diámetro).

7. Conclusión

Las càpsulas de *Morinda citrifolia L*. (Noni) analizadas en el presente estudio, la muestra 1 no cumple con las especificaciones que establece la OEA en relación al limite microbiano, por lo tanto representa un problema de salud para la población.

En el estudio se encontró la presencia de:

❖ Bacterias Aerobias Mesófilas.

❖ Hongos y Levaduras.

No se encontró:

❖ Bacterias Patògenas: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*.

Con respecto a la muestra 2 esta cumple con las especificaciones que establece la OEA en relación al limite microbiano, por lo tanto no representa un problema de salud pública.

Se encontró la presencia de:

❖ Bacterias Aerobias Mesófilas, pero no sobrepasan las especificaciones.

No se encontró :

❖ Bacterias Patógenas: *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*.

❖ Hongos y Levaduras.

8. Recomendaciones

De acuerdo a los resultados obtenidos en la muestra 1 que representa un riesgo en la salud del consumidor, ponemos a disposición de las autoridades facultativas el presente estudio para dar a conocer los resultados al Ministerio de Salud, por lo tanto recomendamos:

- ❖ Que el MINSA exija a todos los Fitofármacos comercializados el cumplimiento de Análisis Microbiológicos, debido a la alta demanda de estos por la población.
- ❖ Proponer al Ministerio de Salud (MINSA), una revisión de la etiqueta de estos Fitofarmacos para que contengan la información básica al consumidor, tales como:
 - Indicaciones
 - Dosis
 - Fecha de Vencimiento
 - Número de Lote
 - Registro Sanitario

Dado que la etiqueta de los productos analizados solo contenían:

- Nombre comercial
 - Indicaciones
 - Fecha de vencimiento
-
- ❖ Realizar estudios posteriores sobre controles fisicoquímicos al las càpsulas de *Morinda citrifolia L*. (Noni).

9. Bibliografía

- ❖ The United States Pharmacopeia 29 and the National Formulary 24. Twenty-nine, Edition. The United States Pharmacopeia Convention Inc. USA , 2006.
- ❖ Gessner G. Hawley. Diccionario de química y de productos químicos. Editorial Ediciones Omega. S.A. Barcelona, 1985.
- ❖ Andino Allan, Espinoza Walter y Lagos Ariel. Determinación del Límite microbiológico al jugo de *Morinda citrifolia L*. (Noni) con mayor demanda en farmacias y/o centros naturistas de la ciudad de León, enero 2007.
- ❖ Arguello N, Martínez Y. Análisis Microbiológico de Fitofarmacos no obligatoriamente Estériles Elaborados por el Laboratorio ECOLIFE. Facultad de Ciencias Químicas. Departamento de Análisis de Drogas y Medicamentos. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. León, Marzo 2004.
- ❖ Cadena M, Soto M, Valladares F. Determinación de Características Fisicoquímicas del Extracto Natural Pausterizado a Base de *Morinda Citrifolia L*. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Químicas. Departamento de Análisis de Drogas y Medicamentos. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. León, Abril 2005.
- ❖ Rueda J. Navarrete Determinación microbiología de los diferentes tipos de té que se comercializan en los supermercados de León en el periodo septiembre-octubre de 1995. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Químicas. Departamento de Análisis de Drogas y Medicamentos. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. León, Octubre 1995.
- ❖ Solís, Pablo N., Guerrero de Solís, Nilka., Gattuso, Susana y Cáceres, Armando. Manual de Caracterización y Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fito terapéuticos. Proyecto Desarrollo de Tecnología de Cultivo de Plantas Medicinales y Producción de Fito terapéuticos. (OEA/ALCD/AE 089/03) Pág. 84-91.
- ❖ ¿Qué es el Noni? [en línea]. [fecha de acceso 13 d noviembre del 2006]; URL disponible en :

<http://www.google.com/search?q=cache:T07cB7QyLAoJ:www.noni.com.pa/+noni&hl=es&gl=ni&ct=clnk&cd=11&lr=lang.es>

❖ Galdo Fernández Amelia. ¿Es el Noni una planta milagrosa? Salud Vida: Lo natural y tradicional. [en línea].2006 Octubre 30 [Fecha de acceso 13 de noviembre del 2006]; URL disponible en:

<http://www.google.com/search?q=cache:OlsArpHhklJ:www.sld.cu/saludvida/naturaltradicional/temas.php%3Fidv%3D10541+noni&hl=es&gl=ni&ct=clnk&cd=109&lr=lang.es>

❖ Gómez, Mario. Noni. La farmacia natural de la Polinesia. Ecoaldea. [en línea].

[fecha de acceso 15 d octubre del 2006]; URL disponible en: <http://www.google.com/search?q=cache:3klEqwJsHAWJ:www.ecoaldea.com/plmd/noni.htm+Noni,+la+farmacia+natural+de+la+polinesia&hl=es&gl=ni&ct=clnk&cd=1&lr=lang.es>

❖ Salmeròn Nuñez, Luis. Noni con fama asegurada. La Prensa. . [en línea].2005 mayo 4, [fecha de acceso 20 de octubre del 2006]; URL disponible en: <http://www.google.com/search?q=cache:GlaLD-eCKJ:www.la.prensa.com.ni/archivo/2005/mayo/04/campoyagro/+www.la.prensa.com.ni/archivo/2005/mayo/04/campoyagro/&hl=es&gl=ni&ct=clnk&cd=1&lr=lang.es>

❖ Ruiz Molina, Caroll. Morinda Citrifolia. Monografías. [en línea].2006, Octubre 23. [fecha de acceso 10 de noviembre del 2006]; URL disponible en: <http://www.google.com/search?q=cache:e-Sk09kja0QJ:www.monografias.com/trabajos38/el-noni/el-noni.-shtml+-noni-&hl=-es&gl=-ni-/ct=-c-lnk &CD=22&lr=lang.es>

❖ Alimentación Sana.[en línea].2006, Octubre 09.[fecha de acceso 28 de noviembre del 2006]; URL, disponible en:

<http://www.google.com/search?q=cache:YJw1nWetQZ4J:www.alimentacion=sana.com.ar/informaciones/Noni/noni.estudios.html+Morinda +Citrifolia &hl=es&gl=ni&ct=clnk&cd=11&lr=lang.es>

- ❖ Rodríguez Montoya, Martha C. Los beneficios de la pasteurización del helado. Consuma seguridad. [en línea]. 2004, Agosto 18. [fecha de acceso 28 de noviembre del 2006]; URL disponible en:
<http://www.consumaseguridad.com/wet/es/investigaciòn/2004/08/18/13976.php>.
- ❖ Gonzáles Lavaut, Nirda E., Gonzáles Lavaut, José A. Morinda Citrofilia Linn: Potencialidades para su utilización en la salud humana, Revista Cubana de Farmacia. [en línea]. 2003, Septiembre. [fecha de acceso 25 de noviembre del 2006]; 37 URL, disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sciarttext&pid=S003475152003000300006&lng=es&nrm=iso&tlng=es>.
- ❖ Ruiz Quiroz, Julio Reynaldo. Control Límite Microbiano. El rincón del vago. [en línea]. [fecha de acceso 29 de noviembre del 2006]; 6 Pág. URL disponible en [#http://html.rincondelvago.com/control-de-limite-microbiano.html](http://html.rincondelvago.com/control-de-limite-microbiano.html).
- ❖ Munguia, Carol. Noni, La Planta Sagrada. La Prensa. [en línea].2003, Diciembre 4. [fecha de acceso 29 de noviembre del 2006]; URL, disponible en:
<http://www.google.com/search?q=cache:XDxA56Z5LGcJ:WWWni.laprensa.com.ni/archivo/2003/diciembre/04campollagro/+noni&hl=es&gl=ni&ct=clnk&cd=2>.

Ensayo Microbiològico en càpsulas de *Morinda citrifolia L* (Noni) comercializadas ambulatoriamente en la ciudad de Leòn, en el mes de Febrero del 2008.

ANEXO

Entrevista

La. Siguiete informaci3n ser3 utilizada para fines del estudio, no se revelara el nombre del comerciante responsable de los puestos Ambulatorios.

1. Nombre del responsable de los puestos Ambulatorios.

2. ¿Comercializa Noni?

Si _____ No _____

.Si la respuesta es afirmativa se procede a responder las siguientes preguntas:

3. ¿Cual es la presentaci3n mas demandada por la poblaci3n?

4. ¿Precio al publico?

5. ¿Tiene Registro Sanitario?

Glosario

Análisis del Medicamento:

Es el conjunto de inspecciones, pruebas y ensayos a los cuales se somete una muestra de un medicamento, con el fin de obtener información inequívoca acerca de su identidad, uniformidad, pureza, potencia o concentración además para denotar pruebas de identidad y otras como biodisponibilidad y estabilidad las cuales en un sentido estricto, no se consideran pruebas analíticas. El término Análisis del Medicamento se refiere al conjunto de determinaciones destinadas a examinar su calidad

Buenas Prácticas de Laboratorio:

Conjunto de reglas, procedimientos operativos y prácticas adecuadas para garantizar la calidad e integridad de los datos generados por un laboratorio.

Buenas Prácticas de Manufactura:

Conjunto de procedimientos y normas destinadas a garantizar, en todo momento, la producción uniforme de lotes y medicamentos que satisfagan las normas de identidad, actividad, pureza, etc.

Control de Calidad:

Sistema planificado de actividades cuyo propósito es el de asegurar un producto de calidad, el cual incluye, todas las medidas requeridas para asegurar la producción de lotes uniforme de medicamentos que cumplan con las especificaciones establecidas de identidad, potencia, pureza y otras características.

Farmacopea:

Conjunto o colección de normas sobre principios activos, productos farmacéuticos auxiliares, productos medicamentosos o terminados y métodos recomendados a objetos de constatar si estos los cumple y que ha sido publicado o reconocido por la autoridad sanitaria competente. Existen farmacopeas nacionales, plurinacionales, como la farmacopea Europea, Farmacopea Internacional, farmacopea de los Estados Unidos, esta última tiene status legal en varios países de América Latina.

Morinda citrifolia L.

Fruto Verde



Ensayo Microbiològic en càpsulas de *Morinda citrifolia* L (Noni) comercialitzades ambulatòriament en la ciutat de Leòn, en el mes de Febrer del 2008.

Morinda citrifolia L.

Fruto Maduro

