

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS,
BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS**

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**“EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE CÁPSULAS CON
PLANTAS MEDICINALES EN POLVO CON REGISTRO SANITARIO
DE DIGEMID Y DIGESA, EXPENDIDOS EN CADENAS DE
BOTICAS DE AREQUIPA-2014”**

Tesis presentada por las bachilleres:

 **SOFÍA NORMA TULA MACEDO**

 **DILCIA ROSA PÉREZ VILCA**

**Para obtener el Título Profesional de Químico-
Farmacéutica**

Asesor:

Dra. Gaby Velasco Lozano

AREQUIPA – PERÚ

2016

AGRADECIMIENTOS

Son los cimientos de nuestro desarrollo, todos y cada uno de ustedes –nuestra familia- han destinado tiempo para enseñarnos nuevas cosas, para brindarnos aportes invaluables que servirán para toda nuestra vida.

Especialmente estuvieron presentes en la evolución y posterior desarrollo total de nuestra tesis, les agradecemos con creces.

Los queremos

DEDICATORIA

Este trabajo es dedicado al esfuerzo de nuestros padres por el estudio y al todo poderoso por el día a día y sobre todo por haber logrado una de las tantas metas que aún nos faltan por cumplir..

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
OBJETIVOS	7
1.1. General	7
1.2. Específicos	7
HIPÓTESIS	8
CAPÍTULO I	9
MARCO TEÓRICO	9
1.1. FITOTERAPIA	9
1.2. FITOFARMACO	10
1.2.1. FITOFARMACO Y FARMACO QUIMICO	11
1.2.2. TIPOS DE FITOFARMACOS	11
1.2.3. CATEGORIZACIÓN DE LOS FITOMEDICAMENTOS:	12
1.3. BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA DE FITOFARMACOS	13
1.4. CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA VEGETAL	15
1.5. CALIDAD SEGURIDAD Y EFICACIA DE FITOFÁRMACOS	15
1.5.1. CALIDAD	15
1.5.2. SEGURIDAD	16
1.5.3. EFICACIA	17
1.6. CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA	17
1.6.1. BACTERIAS AEROBIAS MESOFILAS	18
1.6.2. FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE	19
1.6.3. EL GENERO SALMONELLA	19
1.6.4. HONGOS	21
1.6.3.1. TIPOS DE HONGOS	22
1.7. FUENTES DE CONTAMINACIÓN	24
1.8. LÍMITES PERMISIBLES DE CONTAMINACIÓN MICROBIANA EN PRODUCTOS NATURALES	25

1.9.	REGLAMENTO PARA EL REGISTRO, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS, DISPOSITIVOS MÉDICOS Y PRODUCTOS SANITARIOS; DECRETO SUPREMO N° 016-2011-SA (DIGEMID)	26
1.10.	REGISTRO SANITARIO DE ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO N° 007-98-SA DIGESA	26
	CAPÍTULO II	28
	MATERIALES Y MÉTODOS	28
2.1.	ÁMBITO Y TEMPORALIDAD	28
2.2.	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	28
2.3.	MATERIALES	28
2.3.1.	MATERIAL DE ESTUDIO	28
2.3.2.	MUESTRA	29
2.3.3.	MUESTREO	29
2.3.4.	MATERIAL DE LABORATORIO	29
2.3.4.1	Material de vidrio	29
2.3.4.2	Equipos	29
2.3.4.3	Medios de cultivo	30
2.3.4.4	Otros materiales	30
2.4.	MÉTODOS	30
2.4.1.	MÉTODO PARA LA DESCRIPCIÓN DEL ACONDICIONAMIENTO	30
2.4.2.	ENTORNO DE LA INVESTIGACIÓN	31
2.4.2.1	ASEPSIA Y DESINFECCIÓN	31
2.4.3.	MÉTODO MICROBIOLÓGICO	32
2.4.3.1	PRETRATAMIENTO DEL MATERIAL QUE SERÁ EXAMINADO	32
2.4.3.1.1	MÉTODO OPERATORIO PARA EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS	32
2.4.3.1.2	MÉTODO DE RECUENTO EN PLACAS	33
2.4.3.1.3	MÉTODO DE RECUENTO EN PLACAS	38
	CAPÍTULO III	41
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
		II

3.1. DESCRIPCIÓN DEL ACONDICIONAMIENTO	41
3.2. CONTENIDO MICROORGANISMOS	44
3.2.1. RECUENTO DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS VIABLES	45
3.2.2. RECUENTO DE ENTEROBACTERIAS	54
3.2.3. RECUENTO DE SALMONELLA SHIGUELLA	61
3.2.4. RECUENTO DE HONGOS Y LEVADURAS	69
1.15. APTITUD PARA EL CONSUMO HUMANO	76
CONCLUSIONES	79
SUGERENCIAS	81
FUENTES BIBLIOGRÁFICAS	82
ANEXOS	87
ANEXO N° 1	
REGLAMENTO PARA EL REGISTRO, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS, DISPOSITIVOS MÉDICOS Y PRODUCTOS SANITARIOS (ART. 78 AL 91)	
ANEXO N° 2	
TITULO VIII DEL REGISTRO SANITARIO DE ALIMENTOS Y BEBIDAS INDUSTRIALIZADOS (ART. 101 AL 114)	
ANEXO N° 3	
NTS N° - MINSA/DIGESA-V.01 NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO	
ANEXO N° 4	
MEDIOS DE CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS	
ANEXO N° 5	
ESQUEMA DE RECOLECCIÓN DE DATOS ESQUEMA DE SEMBRADO POR CADA MUESTRA	
ANEXO N° 6	
GALERÍA DE FOTOS	



RESUMEN

La vigilancia sanitaria es una actividad estatal que debe ser permanente a fin de garantizar a los usuarios que los productos autorizados para su comercialización y consumo son seguros para la salud; a través del presente estudio que tiene como objetivo principal la evaluación microbiológica de cápsulas con plantas medicinales en polvo con registro sanitario de DIGEMID y de DIGESA, y que son expendidos en cadenas de boticas de Arequipa, se determinó la calidad de este tipo de medicamentos herbarios.

Para ello se obtuvo una muestra conformada por 18 potes de cápsulas rígidas con plantas medicinales, provienen de tres cadenas de establecimientos farmacéuticos. Se describió el acondicionamiento de estos productos y se encontró que 5 de ellos tienen registro sanitario otorgado por DIGEMID y 13 por DIGESA. Tres de estas muestras tenían productos con ambos tipos de registro sanitario. Todas las muestras fueron debidamente codificadas para facilitar el trabajo microbiológico.

La evaluación de la calidad microbiológica se realizó en base a la propuesta por la Organización Mundial de la Salud. Se determinó la cantidad de unidades formadoras de colonias para bacterias aerobias mesófilas viables, enterobacterias, salmonella-

shiguella, hongos y levaduras. Se practicaron las diluciones necesarias por cada muestra y se procedió a sembrar de las últimas diluciones cada una de ellas por triplicado, exceptuando el cultivo de hongos que se trabajó con las primeras diluciones que a continuación se detalla.

El contenido de UFC de bacterias aerobias mesófilas se encontró un promedio de $2.39 \times 10^8 \pm 2.71 \times 10^7$ para los productos con registro sanitario por DIGEMID, así también para DIGESA la cantidad de crecimiento bacteriano fue el promedio de $7.40 \times 10^8 \pm 2.19 \times 10^7$, haciendo una comparación con lo establecido por la OMS existe una disconformidad con el valor permitido que es de no más de 10^4 bacterias aerobias mesófilas por g o ml.; para el caso de Enterobacterias se halló un promedio de $2.15 \times 10^9 \pm 2.38 \times 10^7$ para las muestras con registro sanitario por DIGEMID, y un promedio de $1.68 \times 10^9 \pm 1.15 \times 10^9$ para los productos con registro sanitario por DIGESA, de igual manera como en el anterior caso haciendo una comparación con los valores dados por la OMS que es no más de 10^2 por g o ml., existe una notable diferencia; como tercer bacteria analizada tenemos a Salmonella-Shiguella se encontró un promedio de $2.34 \times 10^8 \pm 6.91 \times 10^7$ para las muestras obtenidas con registro sanitario por DIGEMID así también se obtuvo el promedio para los productos con registro sanitario por DIGESA que fue de $1.65 \times 10^9 \pm 1.40 \times 10^8$, si lo comparamos con lo dictaminado por la OMS que es Ausencia de *Salmonellas-Shiguella* por g o ml.(48), es claro ver que no cumple en lo absoluto con lo establecido; por último el contenido de Hongos y Levaduras se halló un promedio de $3.12 \times 10^4 \pm 6.48 \times 10^3$ para productos de DIGEMID y para los productos con registro sanitario por DIGESA se obtuvo el promedio de $3.75 \times 10^4 \pm 2.94 \times 10^3$, procedemos a hacer la comparación con los valores especificados por la OMS que es de no más de 10^2 hongos y levaduras por g o ml., volvemos a encontrar que hay una notable diferencia.

La evaluación de la aptitud para consumo humano según el contenido de estos microorganismos arrojó que todas las muestras (5 con registro sanitario de DIGEMID y 13 de DIGESA) no son aptas para consumo humano ya que todas superan los límites permisibles establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

ABSTRACT

Disease surveillance is a state activity must be permanent in order to guarantee to citizens that authorized for marketing and consumer products are safe for health; through this study that main objective evaluation of microbiological herbal capsules with powder DIGEMID health registration and DIGESA, and that are chains of drugstores expended in Arequipa, the quality of this type of herbal medicines was determined.

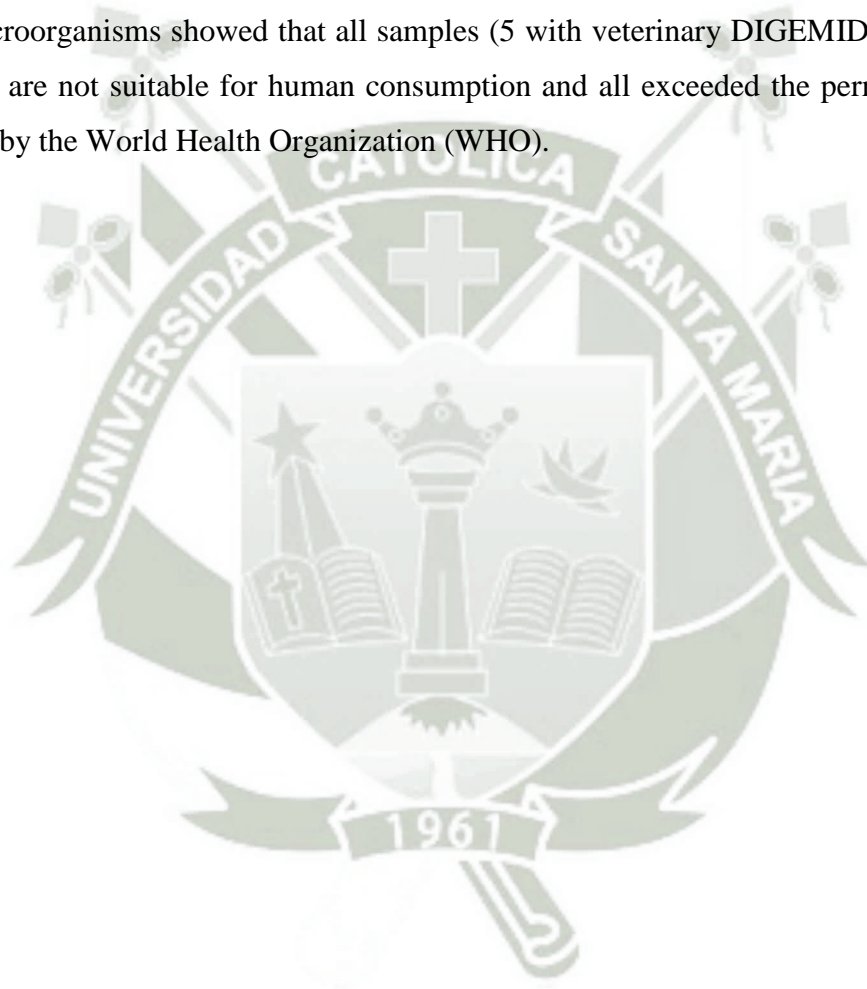
For this, a sample consisting of 18 hard capsules pots with medicinal plants was obtained, these pots came from three chains of pharmaceutical establishments. The packaging of these products are described and found that 5 of them have sanitary registration granted by DIGESA and 13 DIGEMID. Four of these laboratories had products with both types of sanitary registration. All samples were appropriately coded to facilitate microbiological work.

Evaluation of the microbiological quality is performed based on the proposal by the World Health Organization. The number of colony forming units of viable mesophilic aerobic bacteria, enterobacteria, salmonella-shigella, fungi and yeasts was determined. Four dilutions were performed for each sample and plated each in triplicate.

UFC content of aerobic mesophilic bacteria averaged $2.39 \times 10^8 \pm 2.71 \times 10^7$ for products with health registration by DIGEMID found, so to DIGESA the amount of bacterial growth was the average of $7.40 \times 10^8 \pm 2.19 \times 10^7$, making a compared with the established by WHO there is a disagreement with the permitted value is not more than 10^4 aerobic mesophilic bacteria per g or ml; Enterobacteriaceae in the case of an average $2.15 \times 10^9 \pm 2.38 \times 10^7$ for samples with sanitary registration DIGEMID, and an average of $1.68 \times 10^9 \pm 1.15 \times 10^9$ for products with health registration by DIGESA, in the same way as was found in the previous case by making a comparison with the values given by WHO that is no more than 10^2 g or ml, there is a noticeable difference.; as we have analyzed third bacterium Salmonella-Shigella an average of $2.34 \times 10^8 \pm 6.91 \times 10^7$ for veterinary samples obtained by DIGEMID and the average for products with health registration by DIGESA was also obtained that

was found $1.65 \times 10^9 \pm 1.40 \times 10^8$, when compared with what dictated by the WHO is Salmonellas- Absence of shigella per g ml (48), it is clear to see that does not comply at all with the provisions.; finally the content of yeasts and molds an average of $3.12 \times 10^4 \pm 6.48 \times 10^3$ for DIGEMID products and for products with health registration by DIGESA was found on average $3.75 \times 10^4 \pm 2.94 \times 10^3$ obtained, we proceed to make the comparison with the values specified by WHO which is not more than 10^2 fungi and yeasts go ml., we find that there is a noticeable difference.

The assessment of fitness for human consumption based on the content of these microorganisms showed that all samples (5 with veterinary DIGEMID DIGESA and 13) are not suitable for human consumption and all exceeded the permissible limits set by the World Health Organization (WHO).



INTRODUCCIÓN

En la actualidad la población para el tratamiento de sus dolencias tiene una clara preferencia por las plantas medicinales y los productos obtenidos a partir de sus drogas, ello debido a la concepción de que lo “natural” resulta más inocuo que lo “químico”. Evidentemente ante esta tendencia existe un mercado de productos naturales, en el que se ofertan diversos productos con distintas plantas; para los primeros existen sobre todo encapsulados, luego formas farmacéuticas tópicas como geles y pomadas, soluciones orales en forma de “extractos”, “tónicos” y jarabes. Todos estos productos como formas farmacéuticas tienen un cuerpo normativo que los regula y son la Ley N° 29459 o Ley de los Productos Farmacéuticos, dispositivos médicos y Productos Sanitarios, y su respectivo reglamento el Decreto Supremo N° 016-2011-SA.

En estas normas las plantas medicinales son reguladas bajo la clasificación de Medicamentos Herbarios, en el capítulo III del Título III, del reglamento. En este apartado se señalan todas las exigencias que debe cumplir un producto terminado – como las capsulas con plantas medicinales en polvo – para la inscripción al registro sanitario, y su posterior comercialización. Como es de suponer dada la naturaleza de estos productos que están destinados al cuidado de la salud o el alivio de la enfermedad, la norma exige varios requisitos que debe adjuntar el fabricante, que incluyen aspectos técnicos del producto, información bibliográfica con relación al producto botánico, proyectos de rotulado, etc.

Pese a esta regulación algunos “Laboratorios de Productos Naturales” para la comercialización de sus productos, solicitan el registro sanitario a DIGESA, encargada de aplicar el Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de alimentos, que como cuerpo normativo no es tan riguroso como aquel de productos farmacéuticos. Esta vía legal para las empresas es una vía más pronta y fácil de alcanzar la autorización de su producto, sin embargo, se ha observado no solo en el aspecto de estos productos, sino en sus usuarios que manifiestan luego de su consumo problemas digestivos; que dichos productos no tendrían las condiciones sanitarias y técnicas para su consumo. El presente estudio realizó un control microbiológico como punto de partida inicial y determinante para determinar la

aptitud de consumo de estos productos; a lo largo del trabajo que se presenta se observaran los resultados provenientes de 18 muestras pertenecientes de 3 conocidas cadenas de boticas de la ciudad de Arequipa, Perú.



OBJETIVOS

1.1. General

- ✚ Evaluar y comparar la calidad microbiológica y aptitud para el consumo humano de las cápsulas rígidas con plantas medicinales en polvo con Registro Sanitario de DIGEMID y de DIGESA, expandidas en cadenas de boticas.

1.2. Específicos

- ✚ Determinar el contenido de bacterias Aerobias Mesófilos y Coliformes de las cápsulas con plantas medicinales en polvo con Registro Sanitario de DIGEMID y de DIGESA, expandidas en cadenas de boticas.
- ✚ Determinar el contenido de Enterobacterias de las capsulas con plantas medicinales en polvo con Registro Sanitario de DIGEMID y DIGESA, expandidas en cadenas de boticas.
- ✚ Determinar el contenido de bacterias Salmonella-Shiguella de las cápsulas con plantas medicinales en polvo con Registro Sanitario de DIGEMID y de DIGESA, expandidas en cadenas de boticas.
- ✚ Determinar el contenido de Hongos y Levaduras de las cápsulas con plantas medicinales en polvo con Registro Sanitario de DIGEMID y de DIGESA, expandidas en cadenas de boticas.

HIPÓTESIS

Dado que DIGEMID y DIGESA regulan el Registro Sanitario de productos naturales es probable, que los encapsulados con plantas medicinales en polvo autorizados por DIGESA expendidos en cadenas de boticas no presenten la misma calidad microbiológica que los autorizados por DIGEMID.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. FITOTERAPIA

La fitoterapia conocida también como herbolaria (del latín hierba, 'hierba') es la ciencia del uso extractivo de plantas medicinales o sus derivados con fines terapéuticos, para prevención o tratamiento de patologías.

Una traducción etimológica da a entender que se trata de una “terapéutica con plantas”, no obstante esta escueta traducción hace favor al objeto de esta ciencia, pues matizando el concepto se entiende por fitoterapia como “ciencia, y como tal, realiza un estudio cuyo objeto es todo material de origen vegetal con utilidad o finalidad terapéutica; siendo propio de la terapéutica la prevención, atenuación o curación de un estado patológico”. La materia prima vegetal de la que hace uso, sometida a los procedimientos galénicos adecuados permite obtener lo que se conoce como fitofármaco.²¹

El conocimiento de las propiedades terapéuticas de las plantas es un verdadero desafío para la ciencia moderna: día a día se suman importantes investigaciones clínicas y se descubren o confirman numerosos efectos benéficos, muchos de ellos ya conocidos por culturas milenarias. Las plantas, en todo el mundo, no sólo han sido nuestra principal fuente de alimentación y medicinas, sino la fuente de muchas de las aspiraciones, de los mitos, de los significados simbólicos y de las conductas rituales humanas.²¹

La fitoterapia pertenece al ámbito de la medicina y se relaciona estrechamente con la botánica y el estudio del metabolismo secundario vegetal, es ejercido por médicos y por fitoterapeutas. La farmacéutica tiene su aproximación a la fitoterapia en la farmacognosia, que da cuenta de los constituyentes químicos de las plantas o de sus órganos o partes y de las propiedades farmacológicas de estos. La Fitoterapia moderna, se basa en el conocimiento de la Farmacología, y considera los aspectos farmacodinámicos y farmacocinéticos de los medicamentos basados en plantas medicinales, en estudios preclínicos y

clínicos, aunque tiene su punto de origen en el conocimiento ancestral y la experiencia de prueba y error heredada de las pasadas generaciones.²¹

El uso de plantas como recurso terapéutico natural se remonta a tiempos muy remotos. Hoy en día la ciencia confirma la presencia en ellas de compuestos químicos con acciones farmacológicas, denominados principios bioactivos, que constituyen muchas veces los ingredientes primarios utilizados por laboratorios farmacéuticos como punto de partida en el desarrollo de formas comerciales que serán patentadas para su uso terapéutico.²¹

Pero también se pueden usar los recursos vegetales con propiedades medicinales para la preparación de extractos estandarizados de plantas o de sus órganos o partes y son denominados fitofármacos.²¹

Los fitofármacos alcanzan un papel relevante en la terapéutica moderna y pueden ser utilizados con fines preventivos o de tratamiento de las más diversas patologías y basado en lo que se conoce como la medicina basada en la evidencia. Los fitofármacos incluyen aquellos extractos estandarizados producidos a partir de la totalidad de una planta o de sus partes u órganos.²¹

1.2. FITOFARMACO

Los fitofármacos son medicamentos que contienen como principio activo exclusivamente plantas, partes de plantas, ingredientes vegetales o bien, preparaciones obtenidas a partir de ellas. Los fitofármacos en sentido estricto se definen mediante los siguientes dos criterios:

Son fármacos que contienen, como sustancias activas, preparaciones de partes vegetales en una forma galénica específica. La preparación a partir de partes vegetales puede ser: partes vegetales cortadas o pulverizadas, jugos de partes de plantas, tinturas, maceraciones en aceites, destilados y extractos de partes de plantas, obtenidos mediante solventes dentro del marco de varios procedimientos.²²

Como formas galénicas se encuentran especialmente: polvos, gránulos, gotas, jugos, soluciones, cápsulas, comprimidos, grageas, ampollitas, infusiones, pastas, ungüentos, geles y cremas.²²

Los fitofármacos modernos se someten a la comprobación de eficacia y tolerancia según los métodos de determinación de la medicina académica. La comprobación del efecto se realiza, esencialmente, mediante experimentos farmacológicos y la de eficacia mediante estudios clínicos o a través de la experiencia médica.²²

1.2.1.FITOFARMACO Y FARMACO QUIMICO

Presentado en forma sencilla, un fitofármaco en sentido estricto se diferencia de un “fármaco químico” en que contiene como principio activo una preparación vegetal en lugar de una sustancia química sintetizada. Por esta razón, predominan los “extractos” de preparación de plantas. Es evidente que los productos mencionados a continuación no corresponden a la definición relevante para la práctica de los fitofármacos en sentido estricto con base en los dos criterios anteriores:

- a) Fármacos homeopáticos.
- b) Fármacos antroposóficos.
- c) “Remedios naturales”, sentido tradicional de la expresión, “remedios caseros”, entre otros.²²

1.2.2.TIPOS DE FITOFARMACOS

Si un fitofármaco contiene, como principio activo, un solo extracto vegetal se conoce como MONOPREPARADO. Si contiene dos o más extractos con principios activos se conocen como PREPARADO DE COMBINACIÓN. (46)

Bajo el concepto “extracto” se entienden formas diferentes, por ejemplo extractos líquidos, densos, o bien secos. Los medicamentos basados en principios activos vegetales aislados únicos (por ejemplo, digoxina) no se consideran como fitofármacos en sentido estricto, porque no tienen los principios secundarios naturales de un extracto. La unidad de los principios activos, secundarios y excipientes importantes para la eficacia que caracteriza un fitofármaco no se encuentra en estos medicamentos.⁵⁴

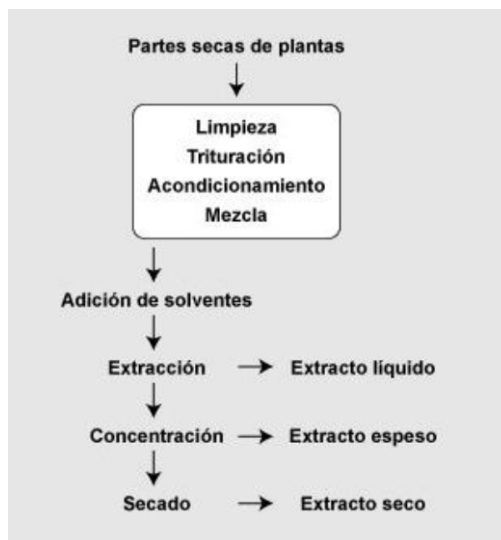


FIGURA N° 1.- Tipos de Fitofarmacos

Los fitofármacos, en sentido estricto, son fármacos:

- Que contienen como principio activo preparaciones vegetales, sobre todo extractos estandarizados, a diferencia de los “fármacos químicos”.
- Que se elaboran en preparaciones galénicas normales como son gotas, comprimidos, grageas, cápsulas o cremas.
- Que se emplean en el campo de la medicina científica.
- Cuyos efectos farmacológicos se prueban mediante experimentos y cuya eficacia clínica se demuestra en estudios clínicos y en la práctica médica.⁵⁴

1.2.3.CATEGORIZACIÓN DE LOS FITOMEDICAMENTOS:

Para que un fitofármaco sea considerado como tal, debe cumplir con las siguientes exigencias de uniformidad:

- Certificación de la especie botánica utilizada: un especialista clasifica la planta por género y especie.
- Partes empleadas: la variabilidad de las sustancias químicas presentes en las plantas, confiere diferentes características farmacológicas a cada una de sus partes; por esta razón, es importante definir la porción de la planta que se utiliza en la fabricación del extracto.

- Factores ambientales: el clima, la fertilidad del suelo, la altura y el uso de pesticidas, pueden alterar la calidad de la planta.
- Condiciones de la cosecha: es importante determinar el tiempo adecuado para cosechar cada planta, ya que el ciclo de crecimiento modifica la composición química del extracto.
- Herbarios libres de contaminación: es de suma importancia asegurar la calidad de las plantas que serán utilizadas para la preparación de fitomedicamentos, deben estar libres de hongos, bacterias, insectos, entre otros.
- Manufactura: debe existir un procedimiento de control de calidad de los procesos de cosecha que aseguren el producto final, su estabilidad y tiempo de duración en los estantes de venta.
- Estandarización de los extractos: es necesario conocer los constituyentes activos de la planta medicinal que se utiliza como la base del extracto que compone el fitofármaco; los cuales deben cumplir con un estándar de cuantificación para garantizar la calidad y seguridad del medicamento.
- Bases de comparación de los fitofármacos: serán determinantes en el tipo de extracto los solventes empleados, los materiales secos utilizados y las condiciones de extracción.

El éxito del producto terapéutico, depende de la calidad e identidad del fitofármaco, ya que son los determinantes de la relación ventaja/desventaja del uso de los mismos.

Lo más importante, es comprender que estos nuevos compuestos medicinales no deben administrarse sin la consulta previa y supervisión del especialista. De este modo, evitando la automedicación, haremos un uso adecuado de los avances más recientes e innovadores de la ciencia y la tecnología.⁵⁴

1.3. BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA DE FITOFARMACOS

Las buenas practicas de manufactura son pautas universales aplicadas en la producción farmacéutica. Los fitofármacos no tienen consideraciones

especiales, pero existen algunas peculiaridades en el complejo de la producción y del control de calidad de los mismos.⁵⁴

Se presenta un resumen de los aspectos relacionados con el Control de Calidad considerados en las pautas adicionales a las buenas practicas de manufactura conformadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Las especificaciones de calidad de la materia prima vegetal deben contemplar:

- Nombre botánico.
- Detalles de la fuente de la planta (lugar de origen, fecha de cosecha, método de cosecha, pesticidas empleados, etc.).
- Parte de la planta utilizada.
- En caso de la planta seca, debe especificarse el sistema de secado.
- Descripción macro y micromorfológica.
- Ensayo de identificación, en el caso que sea posible, de los ingredientes activos o marcadores.
- Evaluación de los componentes de actividad terapéutica conocida o de marcadores.
- Métodos para determinar la posible contaminación con pesticidas y límites aceptables.
- Ensayos para la determinación de contaminación microbiana, incluyendo aflatoxinas o infestación por plagas y límites aceptados.
- Ensayos de metales pesados y adulterantes.⁵⁴

Con relación a las especificaciones del producto final se exige que el ensayo de control debe ser tal refleje la determinación cualitativa y cuantitativa de la composición de los ingredientes activos y las especificaciones son dadas utilizando marcadores si se desconocen los constituyentes activos, de lo contrario, deben especificarse y determinarse cuantitativamente.⁵⁴

Si el producto final contiene mas de una materia vegetal o preparaciones de diversas drogas vegetales y no es posible la determinación cuantitativa de cada ingrediente, se efectúa la evaluación de la mezcla total.⁵⁴

1.4. CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA VEGETAL

Para que la droga cruda vegetal alcance la categoría de Fitomedicamento debe cumplir con una serie de exigencias que incluyen los siguientes factores:

- Contaminación de ingredientes herbarios como metales pesados y contenido de microorganismos: Las plantas medicinales que servirán como base para la preparación de fitomedicamentos debe ser de excelente calidad y estar libre de insectos, hongos, excretas de animales, bacterias y micotoxinas, pesticidas y metales tóxicos tales como el magnesio, plomo arsénico, mercurio y otros.
- Determinación de cenizas: La determinación de cenizas es importante porque nos da el porcentaje de minerales presentes en las plantas. Establece el grado de limpieza de materias primas vegetales (exceso de arena, arcilla). Da el porcentaje de impurezas minerales.
- Cenizas totales: Que es igual a la suma de las cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en agua.
- Cenizas solubles e insolubles en agua: Sirve para determinar adulteraciones en los vegetales.
- Cenizas insolubles en ácidos: Las cenizas insolubles en ácido son una medida de la materia arenosa presente, estando especificados los valores máximos para las hierbas y especias. La presencia de suciedad aumenta los valores obtenidos.
- Tamizaje fotoquímica: Son pruebas preliminares sencillas y rápidos que permiten detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos de compuestos.²²

1.5. CALIDAD SEGURIDAD Y EFICACIA DE FITOFÁRMACOS

1.5.1.CALIDAD

La identificación correcta y la calidad adecuada son importantes en fitoterapia, para evitar adulteraciones, falsificaciones o errores en la especie vegetal. Pese a que nuestro país cuenta con normas sobre el comercio de *recursos* y *productos naturales*. Esta norma no es garantía de que el fabricante nos venda efectivamente lo que dice que es, es imposible para un experto identificar una

planta a partir de pulverizados de esta sin contar con los medios adecuados de análisis de productos vegetales, instrumentos que no cuentan las autoridades de control.²²

Muchas de las plantas medicinales se venden por sus nombres comunes y no de acuerdo al binomio científico, esto acarrea un serio problema de identificación ya que siendo el país pluricultural y cada zona tiene una particular forma de denominación local, más aún que ingresan muchos productos del exterior bajo los nombres comunes, el problema se agrava aún más con las denominaciones *comerciales* que designan algunos laboratorios naturales a sus productos.²²

Muchos de los que expenden plantas medicinales no realizan la recolección de las mismas, sino que las adquieren a personas lugareñas que habitan en el hábitat de la droga, son estas las encargadas de la recolección, y no pocas veces su actividad no tiene ningún conocimiento previo sobre normas de recolección de plantas medicinales.²²

No existe información estadística sobre los productos adulterados, solo a nivel internacional, un estudio efectuado con 54 productos de ginseng demostró que el 60% de los analizados carecían de valor y que el 25 % ni siquiera contenían ginseng. Lo mismo sucede con los productos que refieren tener aloe, ajo, manzanilla por citar solo algunos.²²

1.5.2.SEGURIDAD

La seguridad dentro de esta triada de requisitos es el elemento más simple pero muchas veces peligroso. El potencial toxicológico puede evaluarse sencillamente en animales de experimentación, establece la dosis letal máxima y la dosis letal media supone ensayos que no denotan mayor dificultad. La toxicidad crónica pocas veces resulta evidente, años de utilización de plantas medicinales demuestra su seguridad terapéutica, sin llegar a concluir que necesariamente lo natural es sinónimo de inocuo, ya que existe notables ejemplos de plantas medicinales con potencial tóxico o carcinogénico, como la consuelda, borraja, cicuta, acónito, etc.²²

1.5.3.EFICACIA

La eficacia si plantea problemas, algunas plantas medicinales su eficacia se ve plasmada en la tradición, quien tiene dudas por ejemplo que una infusión de coca es muy digestiva, sin embargo, muchas plantas medicinales se venden bajo el amparo de testimonios o estudios preclínicos aislados. No queremos deducir que las plantas deben utilizarse solo con estudios científicos, ello no debe ser así, ya que como comentamos las plantas suponen complejos activos, de difícil organización química, farmacológicamente hablando. Tampoco se debe seguir rigurosamente un estudio experimental científico, muchos de ellos son *in vitro*, estudios que no consideran la absorción, metabolización y distribución de los principios activos, fases farmacocinéticas que solo ocurren *in vivo*, y pueden alterar significativamente la farmacodinamia del principio activo^(8, 22)

En todo caso y siguiendo el modelo alemán el uso de una planta medicinal debe apoyarse en una base científica, testimonios de pacientes tratados, la tradición, la doctrina fitoterapéutica, esto es las recomendaciones de expertos en la materia y finalmente y no menos importante algunos trabajos de referencia. Todo esto conduce a un grado de *certeza razonable*, es decir, conjunto de aseveraciones que hacen suponer un grado de eficacia muy cercano al que supone un estudio científico estricto.^(8,22)

1.6. CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA

Normalmente los productos medicinales por su naturaleza tienen un gran número de bacterias y mohos, a menudo provenientes del suelo y del medio ambiente en que se encuentran. Tanto así un gran número de bacterias y hongos forman una microflora natural de estos productos, las que predominan frecuentemente son las bacterias aeróbicas formadoras de esporas. Los procesos realizados para su cosecha, manipuleo, producción, frecuentemente hacen que se contaminen y aparezca un crecimiento microbiano adicional.^(8,49)

La determinación de *Escherichia coli* y mohos pueden indicar las buenas prácticas de producción y cosecha.

Un control microbiológico puede darnos suficiente información sobre las condiciones higiénicas en las que se comercializan estos productos ya que como todo medicamento, los productos naturales encapsulados debe tener este control como un ensayo de rutina, y estar incluida en una adecuada legislación y así lograr un adecuado comercio de estos productos naturales en nuestro país.

Pueden estar contaminados por:^(8,49)

1.6.1. BACTERIAS AEROBIAS MESOFILAS

Se definen como un grupo heterogéneo de bacterias capaces de crecer entre 15 y 45°C con un rango óptimo de 35°C. La presencia de este tipo de microorganismo refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, indicando además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipuladas.²⁹

Las bacterias mesófilas: son aquellas que tienen su mayor velocidad de crecimiento a temperaturas comprendidas entre 25 Y 40°C esta clase comprende la mayor parte de los organismos que tienen como huésped el Hombre y otros animales de sangre caliente, por ejemplo: la Salmonella y el Staphylococcus aureus.²⁹

Los organismos que se producen en las plantas y en el suelo son mesófilos por consiguiente el grupo de las bacterias mesófilas aeróbicas es el más abundante y el que se desarrolla en diversos ambientes, debido a sus requerimientos de oxígeno y temperatura, por tal razón se usan como indicadores de contaminación en algunos alimentos. En el recuento de microorganismos aerobios mesófilos se estima la flora total, pero sin especificar tipos de gérmenes.²⁹

Esta determinación refleja la calidad sanitaria de los productos analizados.

Estas bacterias son contaminantes de los alimentos y posibles causantes de enfermedades intestinales en la industria de alimentos humano.²⁹

Entre los principales microorganismos mesófilos aerobios son: Staphylococcus, Proteus, Escherichia, Enterobacter, Clostridium , entre otros.²⁹

1.6.2.FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

Las enterobacterias constituyen uno de los grupos bacterianos más importantes ya que incluyen una gran variedad de géneros asociados con el humano; algunos forman parte de la biota normal, mientras que otros tienen un papel patógeno ampliamente reconocido como *Escherichia* sp., *Shigella* sp., y *Salmonella* sp. Los miembros de esta familia causan principalmente infecciones en los aparatos gastrointestinal y urinario, sin embargo, a partir de la era de los antibióticos, de la quimioterapia moderna y de las medidas inmunosupresoras se ha observado que pueden aislarse de infecciones de cualquier sitio anatómico.¹²

La taxonomía de la familia Enterobacteriaceae es compleja y está cambiando con rapidez conforme se efectúan estudios de homología del DNA y así constantemente presenta una nueva clasificación y lo que hoy se afirma mañana puede modificarse para reinstalar un grupo en su antiguo lugar o cambiarlo.¹²

Las clasificaciones de las enterobacterias se basa inicialmente en la determinación de la presencia o ausencia de diferentes enzimas codificadas por el material genético del cromosoma bacteriano. Estas enzimas involucradas en el metabolismo bacteriano pueden ser evidenciadas en medios especiales usando técnicas de cultivo in vitro en las que el sustrato se incorpora junto con un sistema indicador que pone de manifiesto su degradación en presencia de un metabolito específico.¹²

1.6.3.EL GENERO SALMONELLA

La clasificación de las Salmonellas es compleja y ha sufrido algunos cambios. Hasta 1983 se consideraban tres especies primarias o principales: *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella enteritidis*, que agrupaba a más de 1500 serotipos. En 1986 Erwing, propuso una nueva nomenclatura con seis grupos fenotípicos dentro de una sola tribu Salmonelleae, apoyada en pruebas bioquímicas, esta nomenclatura genéticamente es válida: sin embargo es posible que la taxonomía resulte extraña para muchos microbiólogos y

médicos. Sobre la base de aplicaciones clínicas, se prefiere usar la taxonomía sugerida en la edición de 1984 del Bergey's Manual (Davis, 1996).¹²

Es posible diferenciar 4 tipos clínicos de infección con Salmonellas:

- Gastroenteritis, la manifestación más frecuente, que varía de una diarrea leve a fulminante acompañada por fiebre de bajo grado y grados variables de náuseas y vómitos.
- Fiebre tifoidea o fiebre entérica, potencialmente causada por cualquier cepa de *Salmonella* sp, que por lo general se manifiesta con fiebre leve y diarrea, excepto los casos clásicos de fiebre tifoidea (*Salmonella typhi*) en los que la enfermedad progresa a través de un período temprano de fiebre y constipación.
- Septicemia, seguida por infecciones localizadas que son producidas por cualquiera de los muchos serotipos de las otras Salmonellas.
- Un estado de portador en el cual sujetos con una infección previa, en especial por *Salmonella Typhi*, pueden continuar eliminando el microorganismo en sus heces hasta un año después de la remisión de los síntomas.¹²

Las Salmonellas son bacilos gran negativos, no esporulados, de longitud variable. La mayoría de las especies son móviles merced a flagelos peritricos. Las Salmonellas crecen fácilmente en los medios de cultivo ordinarios pero no fermentan la lactosa o sucrosa. A partir de la glucosa y la manosa, producen ácidos y en ocasiones gas. Tienen a producir H₂S en agar TSI o en agar de Kligler, da positiva la prueba de rojo de metilo y negativa la de Vogues Proskauer, no produce indol. Es catalasa positivo y oxidasa negativo y reduce los nitratos a nitritos. En el medio de EMB y Mac Conkey las colonias que desarrollan son no fermentadoras de lactosa, incoloras transparentes observándose del mismo color que el medio de cultivo, lo mismo sucede en los medios de S.S. y XLD y en el caso del medio verde brillante dichos microorganismos desarrollan colonias de color rosa pálido, transparentes y rodeadas de un halo rojo brillante.²⁹

Sobreviven en forma libre en agua durante periodos. Las Salmonellas son resistentes a la congelación en agua y a ciertos agentes químicos, por ejemplo, el verde brillante, el tetrionato sódico y el deoxicolato sódico, tales compuestos inhiben a los bacilos Coliformes y son, por lo tanto, útiles para el aislamiento de Salmonellas a partir de heces.²⁹

Salmonella typhi y quizá Salmonella paratyphi A y Salmonella schottmulleru (inicialmente llamada Salmonella paratyphi B) son las infecciones para el humano y la infección con estos microorganismo implica el contagio de una fuente humana.²⁹

Sin embargo, la gran mayoría de las Salmonellas son particularmente patógenas en animales que constituyen el reservorio para la infección en humanos. Entre los animales implicados están aves de corral, puercos, roedores, ganado, mascotas (desde tortugas hasta loros) y muchos otros. Los microorganismos casi siempre penetran por la vía bucal, por lo general con alimentos y bebidas contaminados. La dosis infecciones media es de 105-108 microorganismo para producir manifestaciones de infección clínica. (Jawetz, 1992; Koneman, 1990; Rivera, 1995).²⁹

1.6.4.HONGOS Y LEVADURAS

Son microorganismos eucarióticos que pueden ser tanto unicelulares como pluricelulares y cuyas células se asocian formando cuerpos filamentosos llamados hifas; el conjunto de estas hifas se denomina micelio. En la asociación de estos filamentos a veces se producen falsos tejidos. Los hongos, al carecer de clorofila, no realizan la fotosíntesis, por lo cual su alimentación es heterótrofa.³⁸

La nutrición la realizan de la siguiente forma: Segregan al exterior enzimas digestivas y una vez digeridos, los alimentos son absorbidos (digestión externa). Los hongos se clasifican en tres grupos dependiendo del tipo de alimento que consuman.³⁸

- Saprophytes: se encargan de descomponer la materia orgánica.
- Parásitos: se alimentan de los líquidos del interior de otro ser vivo.
- Simbiontes: se asocian con otros seres vivos para favorecerse mutuamente.³⁸

También podemos clasificar los hongos según el tipo de hifas y de esporas:

- a. Ficomicetes u hongos inferiores: Presentan hifas sin membranas plasmáticas que separan sus células. Por ejemplo moho del pan – ascomicetos: Es el grupo mas amplio que forman los hongos.
- b. Presentan hifas (septadas) con membranas plasmáticas que separan sus células. Sus esporas se forman en el interior de células especiales denominadas ascas, o formando conidios. Pueden ser unicelulares como las levaduras o pluricelulares como el *Penicillium* que es el productor de la “penicilina”³⁸
- c. Basidiomicetos: Son hongos pluricelulares. Presentan hifas septadas y sus esporas se forman en el exterior de unas células especiales denominadas basidios. Las setas que derivan de estas esporas pueden ser comestibles, como el champiñón o setas venenosas como la canaleja.³⁸

1.6.3.1. TIPOS DE HONGOS

- a) Levaduras: En microbiología se llama levadura a “todos los hongos con predominio de una fase unicelular en su ciclo de vida”. De esta forma, las levaduras son hongos unicelulares microscópicos y filamentosos, que pueden aparecer aislados o unidos a otros formando pequeñas cadenas o filamentos. Las levaduras son organismos anaerobios facultativos; en presencia de oxígeno, estos organismos son capaces de transformar los azúcares en dióxido de carbono, agua, cierta cantidad de levadura y energía, creciendo rápidamente (respiración). En cambio, en ausencia de oxígeno, estos organismos son capaces de transformar los azúcares en dióxido de carbono y alcohol, obteniendo energía y creciendo lentamente (fermentación).³⁸

En cuanto a la reproducción de las levaduras, puede ser sexual, por gemación, o asexual, por ascosporas. Muchas levaduras siguen un ciclo de reproducción en el cual se van alternando los tipos de reproducción: dos células haploides, que actúan como lamentos se unen creando una celular diploide, la cual es capaz de mitosis, de reproducirse creando individuos genéticamente iguales a ella. En determinadas condiciones, una de estas células diploides, por meiosis, origina células haploides, que actuaran de

nuevo como gametos (de cada celular diploide se obtienen cuatro gametos), cerrando el ciclo. Las levaduras que no son capaces de recorrer el ciclo completo pertenecen al género *Candida*.³⁸

Se tiene constancia del uso de las levaduras desde el año 10000 a.c. cuando se utilizaban para elaborar vinos.

De aquella fecha en adelante, muchas civilizaciones han utilizado estos microorganismos para elaborar productos alimenticios, pan, vino, cerveza, productos de gastronomía. En la actualidad existen algunos productos que sustituyen a la levadura biológica, como es la levadura química, que nos proporciona resultados de forma más inmediata, aunque la levadura biológica se sigue utilizando.³⁸

b) Hongos mucosos: Este grupo abarca a una serie de microorganismos pertenecientes a los protoctistas y que a pesar de ser hongos comparten una serie de características con los protozoos. Durante su vida se presentan de distinta forma: Al principio como amebas, después como masas gelatinosas y por último con un cuerpo fructífero. Se alimentan de materia en descomposición o de bacterias y otros microorganismos mediante fagocitosis.

Los hongos mucosos pueden clasificarse en dos grupos principales; Los acelulares (*Myxogastrea*), que no se presentan formando células independientes sino más bien una masa celular con un gran número de núcleos rodeados por una membrana externa. Los celulares (*Dyctiostelia*) formando organismo independientes que solo se unen bajo condiciones adversas.³⁸

c) Setas: se les llama setas a los cuerpos fructíferos de unos hongos pluricelulares filamentosos, los hongos pertenecientes al grupo Basidiomycetes. Estos hongos producen unas esporas sexuales haploides que crecen en forma de micelio en un ambiente adecuado, pero no producirán cuerpos fructíferos hasta que no se les unan otros micelios haploides. Cuando dos micelios haploides se unen, crecen formando una hifa diploide dicariótica, y aparecen los cuerpos fructíferos o setas.³⁸

- d) Hongos filamentosos: Los hongos filamentosos también son llamados micelares y representan el más típico crecimiento de los hongos microscópicos. Son los típicos mohos que suelen aparecer en las frutas, queso, pan viejo y en medios de cultivo sólidos. Estos hongos forman colonias algodonosas o pulverulentas muy características. Forman filamentos que se denominan hifas que se entrecruzan desordenadamente dando lugar a estructuras más complejas denominadas micelio. En otros hongos las hifas se entrecruzan con una cierta organización pero nunca llegan a formar una estructura compacta.³⁸
- e) Los hongos filamentosos se dividen en inferiores y superiores según las características de sus hifas: Los hongos inferiores están formados por hifas anchas (5-10 μm) y forman mohos mientras que los hongos superiores están formados por hifas finas (0.5-5 μm) y forman además de mohos las setas que tienen tamaño macroscópico y pueden ser venenosas o comestibles. A partir de estos micelios algunas hifas formarán conidios que son las hifas aéreas. Los conidios son esporas asexuales de fuertes pigmentos como negro, marrón o amarillo. Estas esporas germinan para dar nuevas hifas. Los hongos filamentosos son los responsables de muchas alergias además de contaminar muchos alimentos.³⁸

1.7. FUENTES DE CONTAMINACIÓN

Hoy en día existen varias fuentes de contaminación microbiana, que no se les da la debida importancia por lo tanto estos microorganismos, colonizadores y pobladores de tantos medios, contaminen los productos naturales ya que por medio de esta contaminación permite el crecimiento de bacterias y hongos; alguno de los cuales pueden ser patógenos, estos microorganismos contaminan los productos y pueden sufrir una alteración y pérdida de sus propiedades iniciales, quedando en desuso y representar un peligro para la salud del consumidor.^(8,43)

Lo mejor será prevenir mediante una buena asepsia y adecuadas prácticas de manufactura ,y así evitar este tipo de problemas de salud, asegurándose de que los productos estén adecuadamente preservados contra el crecimiento

microbiano y estableciendo límites microbiológicos destinados a garantizar la inocuidad de los productos que se elaboran. ^(8,43)

En la superficie de las plantas en crecimiento existe una flora microbiana típica que se puede contaminar de microorganismo de procedencia extraña ^(8,43).

Generalmente las siguientes fuentes son consideradas como una causa de contaminación:

- ✚ Contaminación por el suelo.
- ✚ Contaminación por los animales
- ✚ Contaminación por las aguas residuales.
- ✚ Contaminación por los manipuladores
- ✚ Contaminación por el agua.

1.8. LÍMITES PERMISIBLES DE CONTAMINACIÓN MICROBIANA EN PRODUCTOS NATURALES

A pesar que los productos naturales no son considerados como productos necesariamente estériles no deben ser un riesgo mayor para la salud que el que representa el resto del entorno normal del hombre. Esto implica que tanto los microorganismos patógenos deben ser excluidos, los microorganismos saprofitos pueden ser tolerados en un número determinado.

Según el Instituto Nacional de Salud y la Organización Mundial de la Salud (OMS) los límites permisibles de contaminación microbiana para preparaciones de administración oral conteniendo materiales crudos de origen natural son los siguientes:

- No más de 10^4 Bacterias Aeróbicas por g o ml.
- No más de 10^2 Enterobacterias por g o ml.
- Ausencia de *Salmonella-Shiguella* por g o ml.(48)
- No más de 10^2 hongos y levaduras por g o ml.

1.9. REGLAMENTO PARA EL REGISTRO, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS, DISPOSITIVOS MÉDICOS Y PRODUCTOS SANITARIOS; DECRETO SUPREMO N° 016-2011-SA (DIGEMID)

Este reglamento es el que establece las pautas específicas para la inscripción al registro sanitario y su comercialización.

La legislación nacional que adjunta en su normativa a los productos naturales, en orden de jerarquía podemos mencionar a la Ley de los Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios, Ley N°29459; la que en su Capítulo III De la Clasificación de los Productos Farmacéuticos, en el artículo 6 de este cuerpo normativo clasifica a los productos naturales como Productos Farmacéuticos de tipo Medicamentos Herbarios, y en el artículo 12 señala que “la comercialización de medicamentos herbarios, sus preparados obtenidos en forma de extractos, destilados, liofilizados, tinturas, cocimiento o cualquier otra preparación galénica con finalidad terapéutica, en la condición de fórmulas magistrales, preparados oficinales o medicamentos se sujeta a los requisitos y condiciones que establece el Reglamento respectivo”, y además: “Las plantas medicinales de uso tradicional y otros recursos de origen natural de uso medicinal que se ofrezcan sin referencia a propiedades terapéuticas, diagnósticas o preventivas pueden comercializarse sin registro sanitario”(Ver anexo No 1)

1.10. REGISTRO SANITARIO DE ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO N° 007-98-SA DIGESA

Los requisitos para la inscripción del Registro Sanitario se deben declarar en la solicitud única de comercio exterior SUCE y para el caso de la reinscripción que se tramita a través de mesa de partes la declaración jurada debe ser suscrita por el interesado, consignando la siguiente información:

- a. Nombre o razón social, domicilio y número de Registro Unificado de la persona natural o jurídica que solicita el registro.
- b. Nombre y marca del producto o grupo de productos para el que se solicita el RS.

- c. Nombre o razón social, dirección y país del fabricante.
- d. Resultados de los análisis físico-químicos y microbiológicos del producto terminado, procesado por el laboratorio de control de calidad de la fábrica o por un laboratorio acreditado en el Perú.
- e. Relación de ingredientes y composición cuantitativa de los aditivos, identificando a estos últimos por su nombre genérico y su referencia numérica internacional.
- f. Condiciones de conservación y almacenamiento.
- g. Datos sobre el envase utilizado, considerando tipo y material.
- h. Período de vida útil del producto en condiciones normales de conservación y almacenamiento.
- i. Sistema de identificación del lote de producción.
- j. Si se trata de un alimento o bebida para regímenes especiales, deberá señalarse sus propiedades nutricionales.

Adicionalmente la norma incluye notas adicionales al trámite que a continuación se menciona:

Nota 1: Adjunto a la solicitud se debe presentarse el Certificado de Libre Comercialización y el Certificado de Uso si el producto es importado, así como el comprobante de pago por concepto de Registro. Debe precisarse que, solo para las reinscripciones tramitadas por mesa de partes debe adjuntar comprobante de pago por concepto de registro.

Nota 2. Actualmente el trámite de inscripción se realiza a través de la ventanilla única de comercio exterior – VUCE.(Ver anexo No 2)

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. ÁMBITO Y TEMPORALIDAD

El presente trabajo de investigación científica se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Católica de Santa María. El periodo de ejecución para la parte de campo fue de marzo a junio de 2015.

2.2. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El diseño de investigación corresponde a una investigación analítica de corte transversal.

2.3. MATERIALES

2.3.1. MATERIAL DE ESTUDIO

El material de estudio de la presente investigación estuvo conformado por potes conteniendo cápsulas duras de plantas medicinales, ajustándose a los siguientes criterios de inclusión y de exclusión.

Es así que tenemos a continuación los siguientes criterios de inclusión:

- Las cápsulas duras deben contener plantas medicinales pulverizadas.
- La muestra deben ser adquiridas en cadenas de boticas.
- La muestra deben ser de distintos laboratorios fabricantes nacionales.
- Deben contar con registro sanitario de DIGEMID o DIGESA.
- Deben encontrarse dentro del periodo útil del producto.

Los siguientes son los criterios de exclusión:

- La muestra no se deben captar de lugares de dudosa procedencia como mercados y comercialización ambulancia.
- La muestra no se debe adquirir sin registro sanitario.

2.3.2.MUESTRA

La muestra estuvo conformada por 18 potes de cápsulas con plantas medicinales, estos potes provienen de 3 cadenas de establecimientos farmacéuticos tipo botica.

2.3.3.MUESTREO

El muestreo fue no probabilístico e intencional, de forma aleatoria y por cuestiones de ética en la investigación no se divulgarán el nombre comercial o razón social de las cadenas de donde se adquirieron los productos, del mismo modo en cuanto a estos tampoco se mostraran el nombre comercial de estos productos y el nombre del laboratorio fabricante.

2.3.4.MATERIAL DE LABORATORIO

2.3.4.1 Material de vidrio

- Baguetas
- Embudo
- Laminas cubre objetos
- Laminas porta objetos
- Matraz Erlenmeyer
- Pipeta Pasteur
- Pipetas
- Pipetas automáticas
- Placas Petri de 10x1.5 cm
- Probetas graduadas
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitados

2.3.4.2 Equipos

- Autoclave
- Balanza de precisión
- Cocinilla eléctrica

- Estufa
- Horno
- Mechero Bunsen
- Microscopio óptico
- Refrigerador

2.3.4.3 Medios de cultivo

- Agar Mac Conkey
- Caldo Peptonado
- Agar Salmonella-Shiguella
- Agar Saboraud
- Agar Trypticase

2.3.4.4 Otros materiales

- Alcohol 70°
- Algodón
- Barbijo y gorro de laboratorio
- Espátulas de acero inoxidable
- Gasa estéril
- Guantes estériles de látex talla 7
- Lápiz marcador
- Papel filtro rápido
- Papel Kraft
- Plumón marcador indeleble
- Papel filtro

2.4. MÉTODOS

2.4.1. MÉTODO PARA LA DESCRIPCIÓN DEL ACONDICIONAMIENTO

Para la descripción del acondicionamiento primario de los frascos con cápsulas

rígidas de plantas medicinales se utilizó el método observacional, que consiste en el análisis visual de la muestra, recogiendo la información contenida en el rotulado en una ficha de recolección de datos, en la que se detalló la siguiente información:

- Composición
- Tipo de frasco
- Fecha de vencimiento
- Procedencia
- Tapa de seguridad

2.4.2. ENTORNO DE LA INVESTIGACIÓN

2.4.2.1 ASEPSIA Y DESINFECCIÓN

Debido a que se trata de un estudio de control microbiológico toda la investigación se ejecutó en un entorno de asepsia y desinfección (Ver Figura N°2). Para ello se tomaron las siguientes medidas:

- Utilización de indumentaria: barbijo, guantes estériles, guardapolvo y gorro de laboratorio.
- Desinfección de la superficie de trabajo mediante limpieza con alcohol etílico 70°.
- Asepsia de las manos con jabón líquido desinfectante y posterior tratamiento con alcohol en gel.
- Esterilización de todo el utillaje de laboratorio a utilizar, incluidos agares.
- Ejecución de las operaciones de tratamiento de la muestra y su sembrado en presencia de la llama de mechero Bunsen.



FIGURA N° 2 Esterilización del material de vidrio

2.4.3. MÉTODO MICROBIOLÓGICO

Las técnicas microbiológicas utilizadas son las propuestas por la Organización Mundial de la Salud en su “*Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*”. Estas técnicas comprenden los siguientes procedimientos:

2.4.3.1 PRETRATAMIENTO DEL MATERIAL QUE SERÁ EXAMINADO

Por tratarse de encapsulados que contienen droga vegetal triturada; se consideró el método para el material no oleoso e insoluble en agua.

En un medio aséptico (se limpió el mesón con alcohol de 70° y se tuvo cerca la flama del mechero), se pesaron 20 cápsulas de cada muestra para obtener un promedio de la misma, luego se procedió a abrir una a una las cápsulas, vaciando su contenido sobre un papel filtro tarado, se abrieron varias cápsulas hasta lograr un peso de 10g, este contenido se suspendió en 90 mL de caldo peptonado, se homogenizó la suspensión mecánicamente mediante agitación (dilución-1) y se procedió luego a la preparación de las diluciones necesarias para el análisis.

2.4.3.1.1 MÉTODO OPERATORIO PARA EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Los ensayos para determinar la contaminación microbiana fueron también llevados a cabo bajo condiciones de asepsia para evitar la contaminación

accidental durante la preparación del ensayo.

Las precauciones a tomar para evitar las contaminaciones no deben afectar adversariamente a los microorganismos que pueden ser encontrados en el ensayo, esto es, no se debe utilizar medidas que puedan destruir a estos contaminantes antes de ser analizados.

Para realizar las diluciones de las muestras, también se empleó, agua peptonada. Se toma 1 ml de la muestra previamente tratada (dilución 10^{-1}) y se depositó en un tubo previamente rotulado que contiene 9 mL de agua peptonada, mezclar en forma manual obteniéndose una dilución 10^{-2} , y así sucesivamente hasta obtener el número de diluciones necesarias (Ver Figura N°3).

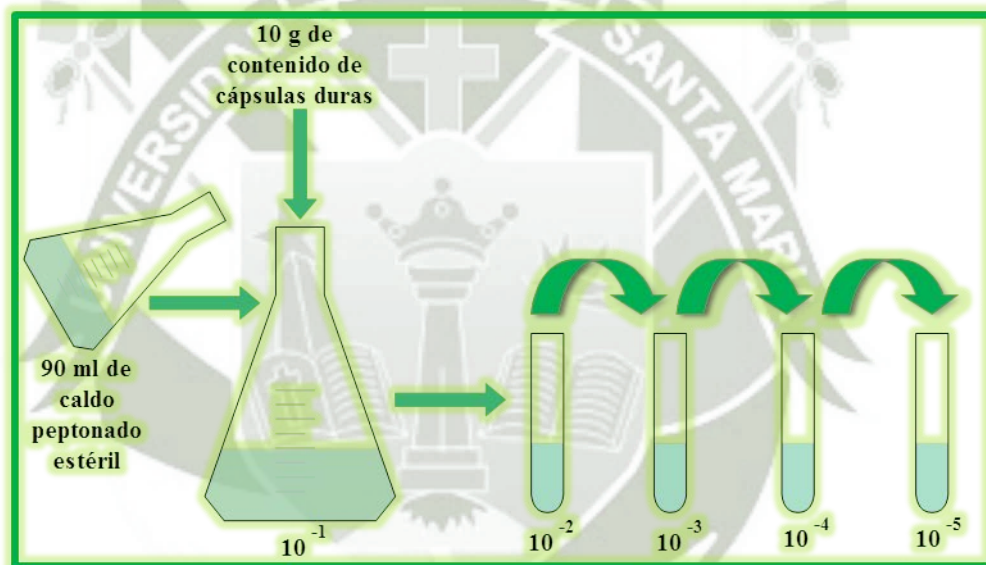


FIGURA N° 3 Diluciones de la muestra

2.4.3.1.2 MÉTODO DE RECUENTO EN PLACAS

Usando placas Petri, se adicionó a cada placa una mezcla de 1 ml de dilución, y aproximadamente 15 ml de agar a $35^{\circ}\text{C} \pm 1$ (Ver Figura N°4).

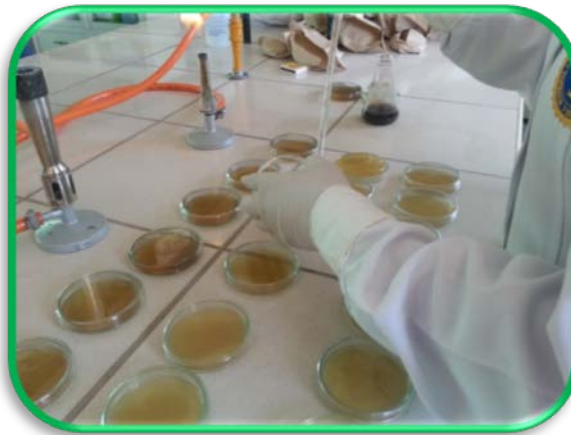


FIGURA N° 4 Sembrado de las muestras

Preparar al menos 3 placas semejantes usando la misma disolución (al 10^{-1} , 10^{-2} , etc). E incubar de 30 a $35^{\circ}\text{C}\pm 1$ por 24 a 48 horas (según el microorganismo). Calcular el resultado usando placas con 30 a 300 colonias por placa, consistiendo en una prueba de evaluación.

2.4.3.1.2.1 RECUESTO DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS VIABLES

El recuento de Bacterias aerobias mesófilas viables se realizó por el método de siembra por dilución, por triplicado, utilizando el medio Agar Soya Trypticasa, a partir de las diluciones de la muestra (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} y 10^{-9}).

Se dejó solidificar el agar, luego se incubaron las placas en posición invertida a 37°C por 24 a 48 horas (Ver Figura N°5). Al cabo de este tiempo se seleccionaron 3 placas correspondientes a una dilución que contenían entre 30 a 300 colonias y se efectuó el recuento.

Los resultados se expresaron en términos de unidades formadoras de colonias por mL de muestra (UFC/mL), simultáneamente se adicionó a placas Petri, agar sin inocular y agar inculado con el diluyente (caldo peptonado) para descartar posibles contaminaciones en el transcurso de la investigación.

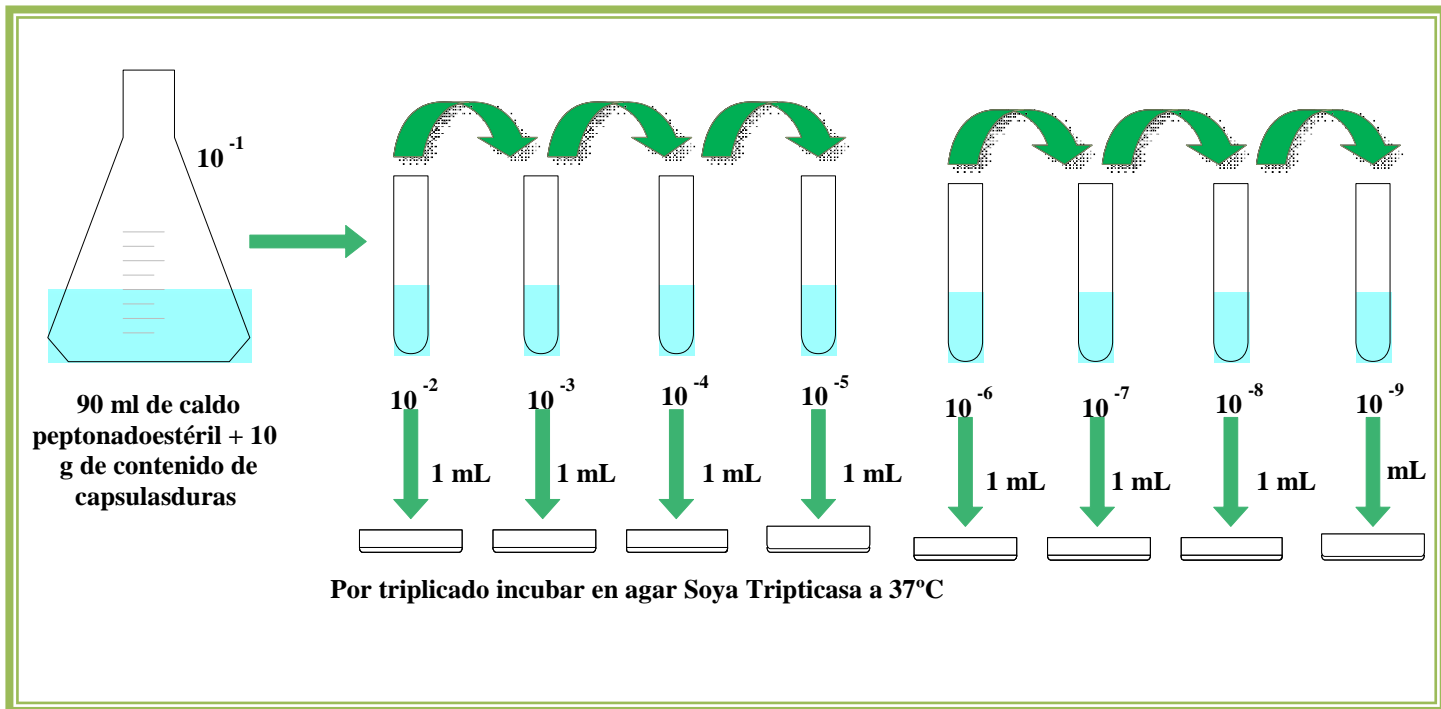


FIGURA N° 5: Diluciones de la muestra para el cultivo en Agar Trypticasa

2.4.3.1.2.2 RECUENTO DE ENTEROBACTERIAS

El recuento de *Enterobacterias* y otras bacterias Gram (-), se realizó por el método de siembra por dilución, por triplicado, utilizando el medio Agar Mac Conkey, a partir de las diluciones de la muestra (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} y 10^{-9}). Se deja solidificar el Agar y luego se incuban las placas en posición invertida a 37°C por 24-48 horas (Ver Figura N°6).

Al cabo de este tiempo se seleccionaron 3 placas correspondientes a una dilución que contenían entre 30 a 300 colonias y se efectuó el recuento. Los resultados se expresaron en términos de unidades formadoras de colonias por mL de muestra (UFC/mL), simultáneamente se trabajó con un blanco de la solución diluyente estéril (caldo peptonado) para descartar posibles contaminaciones en el transcurso de la investigación.

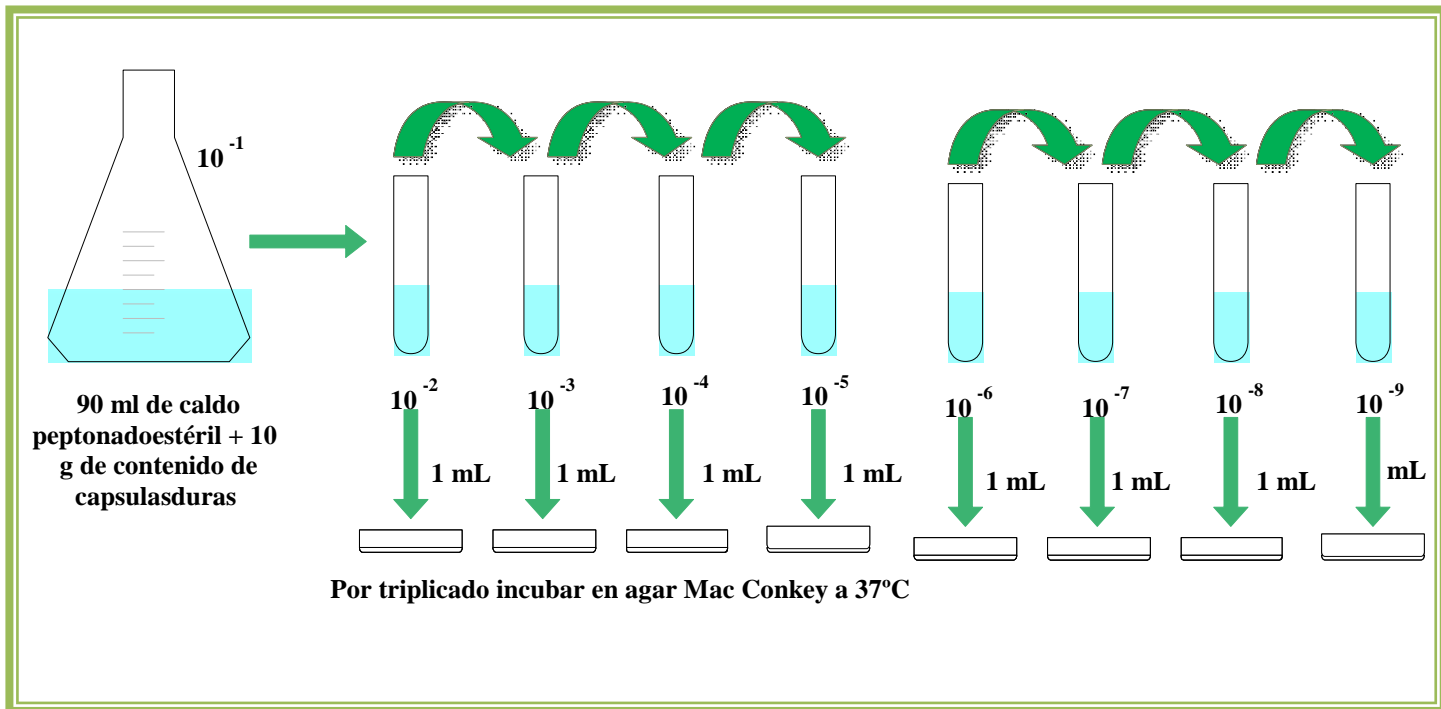


FIGURA N° 6: Diluciones de la muestra para el cultivo en Agar Mac Conkey

2.4.3.1.2.3 RECUENTO DE SALMONELLA-SHIGUELLA

El recuento de *Salmonella-Shiguella* y otras bacterias Gram (-), se realizó por el método de siembra por dilución, por triplicado, utilizando el medio Agar Salmonella-Shiguella, a partir de las diluciones de la muestra (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} y 10^{-9}). Se dejó solidificar el Agar y luego se incubaron las placas en posición invertida a 37°C por 24-48 horas. (Ver Figura N° 7)

Al cabo de este tiempo se seleccionaron 3 placas correspondientes a una dilución que contenían entre 30 a 300 colonias y se efectuó el recuento. Los resultados se expresaron en términos de unidades formadoras de colonias por mL de muestra (UFC/mL), simultáneamente se trabajó con un blanco de la solución diluyente estéril (caldo peptonado) para descartar posibles contaminaciones en el transcurso del análisis.

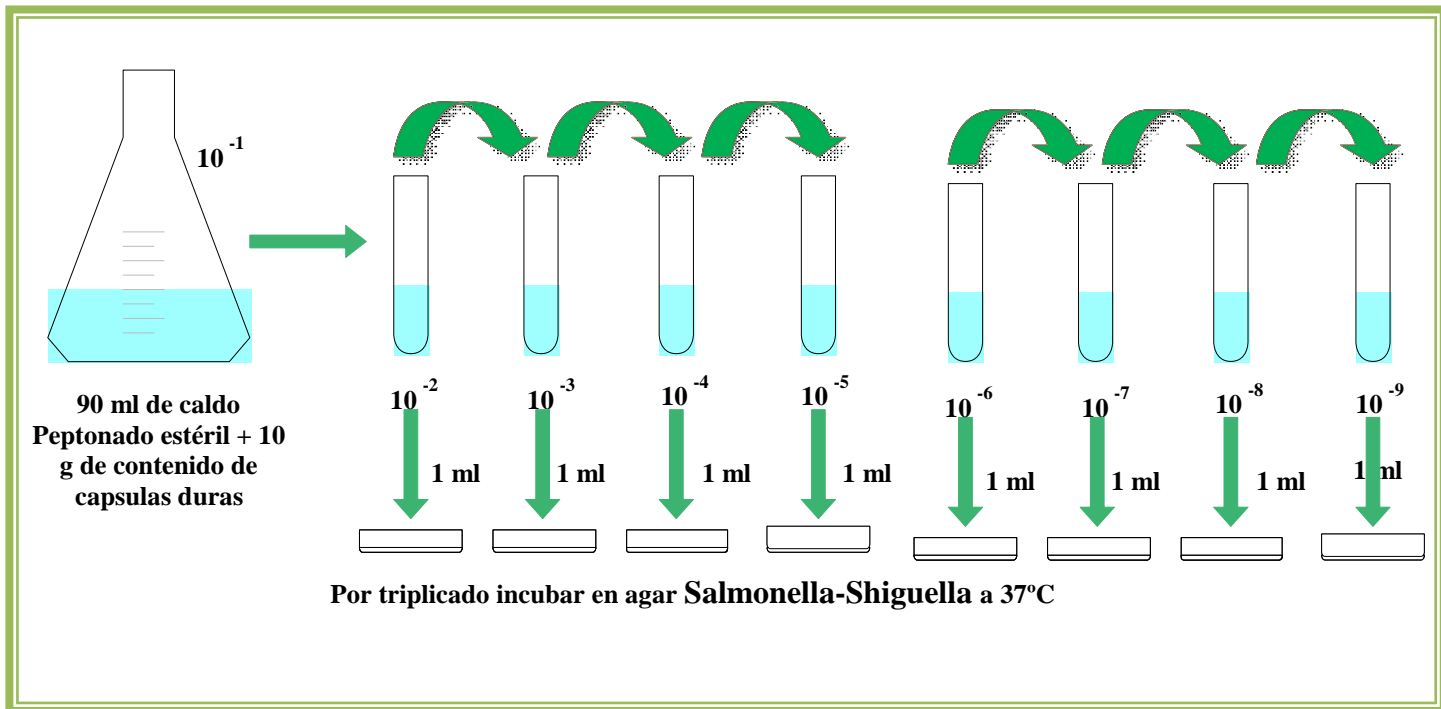


FIGURA N° 7: Diluciones de la muestra para el cultivo en Agar Salmonella- Shiguelia

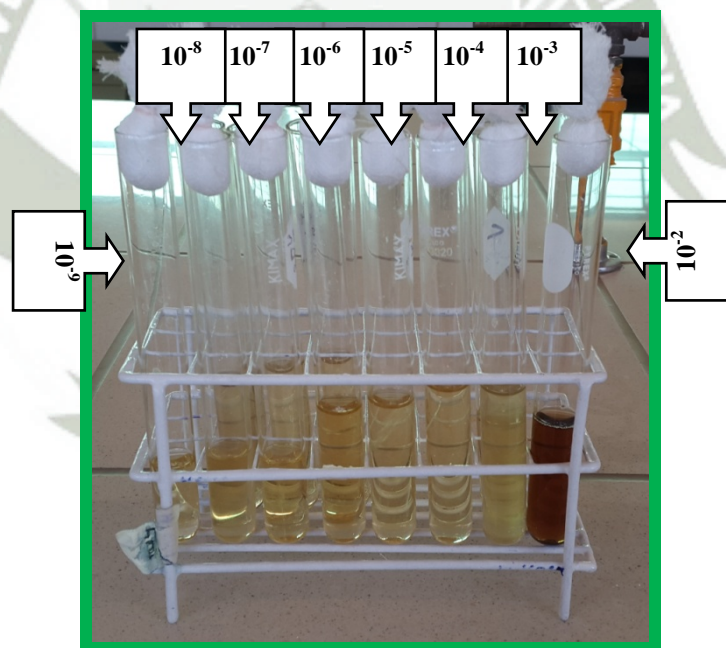


FIGURA N° 8: Diluciones de la muestra para el cultivo en los Agares

2.4.3.1.2.4 RECUENTO DE HONGOS Y LEVADURAS

Usando placas Petri sembrar a cada placa una mezcla de 1 ml de la preparación por el método de siembra por dilución, a partir de las diluciones de la muestra, utilizando el medio agar Saboraud (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5}). Se dejó solidificar el agar y luego se incubaron las placas en posición invertida a temperatura ambiente por 5 a 7 días.

Al cabo de este tiempo se seleccionaron 3 placas correspondientes a una dilución que contenían entre 30 y 300 colonias y se efectuó el recuento.

Los resultados se expresaron en términos de unidades formadoras de colonias por mL de muestra (UFC/mL), simultáneamente se adicionó a placas Petri sin inocular y agar inoculado con el diluyente para descartar posibles contaminaciones en el transcurso del análisis.

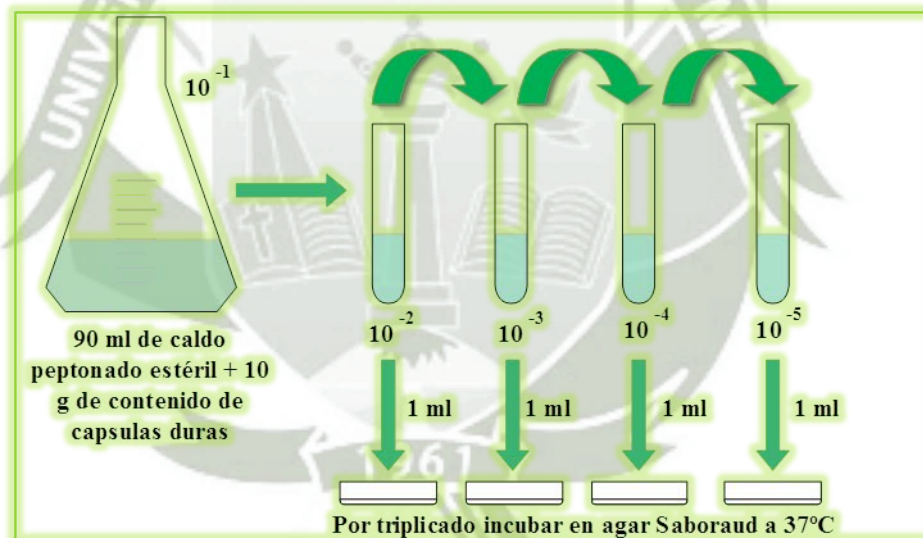


FIGURA N° 9: Dilución de la muestra

2.4.3.1.3 MÉTODO DE RECUENTO EN PLACAS

Todos los conteos realizados se recopilaron en tablas tomando en consideración la dilución, tipo de registro sanitario que posee y tipo de microorganismo del que se realizó el conteo en placa. Luego, se hizo uso de la formula propuesta por el FDA:

$$N = \frac{\sum c}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) + (0,01 \times n_3)] \times d}$$

N = Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por ml o g de producto

$\sum c$ = *Sumatoria de todas las colonias contadas en placa*

n_1 = *Numero de placas en la dilución 1*

n_2 = *Numero de placas en la dilución 2*

n_3 = *Numero de placas en la dilución 3*

d = *Dilución de donde el primer conteo se lo gró obtener*

A partir de esta fórmula se hizo el reemplazo de cada uno de los términos de la ecuación con su correspondiente. Las “n1”, “n2” y “n3” se les reemplazó por 3 ya que se realizó 3 placas por cada dilución.

$$N = \frac{\sum c}{[(1 \times 3) + (0,1 \times 3) + (0,01 \times 3)] \times d}$$

Una vez reemplazados los términos se procedió a realizar la ecuación a fin de reducir la ecuación y tener un único coeficiente para $\sum c$ que dé como resultado N.

$$N = \frac{\sum c}{[(1 \times 3) + (0,1 \times 3) + (0,01 \times 3)] \times d}$$

$$N = \frac{\sum c}{[(3) + (0,3) + (0,03)] \times d}$$

$$N = \frac{\sum c}{[3,33] \times d}$$

El término “d” se reemplazó por 10^{-7} para el caso de bacterias y 10^{-3} para el caso de hongos y levaduras.

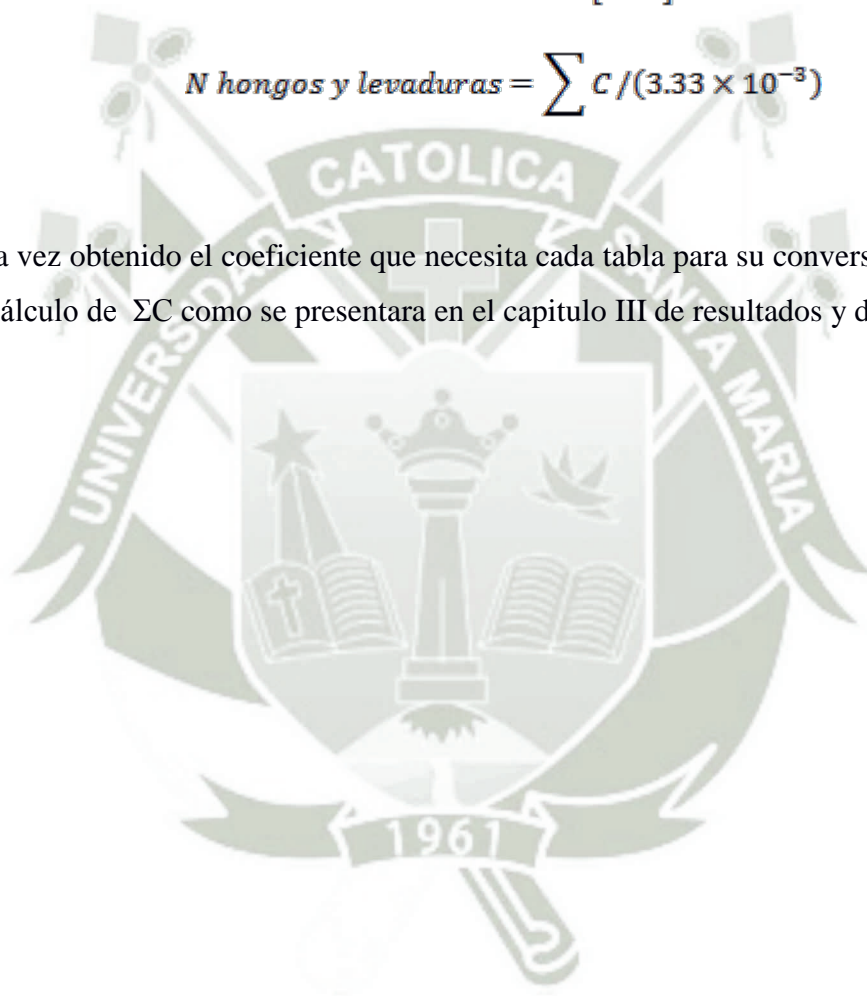
$$N \text{ bacterias} = \frac{\sum c}{[3.33] \times 10^{-7}}$$

$$N \text{ bacterias} = \sum c / (3.33 \times 10^{-7})$$

$$N \text{ hongos y levaduras} = \frac{\sum c}{[3.33] \times 10^{-3}}$$

$$N \text{ hongos y levaduras} = \sum c / (3.33 \times 10^{-3})$$

Una vez obtenido el coeficiente que necesita cada tabla para su conversión, se realizó el cálculo de $\sum C$ como se presentara en el capítulo III de resultados y discusión.



CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. DESCRIPCIÓN DEL ACONDICIONAMIENTO

Para la evaluación de la calidad microbiológica de cápsulas rígidas con plantas medicinales las cuales poseen registro sanitario otorgado por DIGEMID y/o DIGESA fue necesario adquirir frascos de dichos productos naturales provenientes de diferentes cadenas. Para cada una de las muestras se realizó el registro de sus rotulados los cuales se resumen en la Tabla 1.

Tabla N°1. Ficha de recolección de datos de cápsulas rígidas de plantas medicinales

Muestra	Registro Sanitario	Código Muestra	Composición	Vencido	Procedencia	Frasco	Sello seguridad
1	DIGEMID	DM1L1	Chancapiedra	12/ 2015	Lima (D)	PP	NO
2	Digesa	dM2L1	Achiote	01/ 2017	Lima (d)	PP	NO
3	Digesa	dM3L1	Alcachofa	11/ 2017	Lima (d)	PP	NO
1	Digesa	dM1L2	Hercampuri	05/ 2017	Lima (d)	PP	NO
2	Digesa	dM2L2	Caigua	10/ 2015	Lima (d)	PP	NO
3	Digesa	dM3L2	Alcachofa	11/ 2017	Lima (d)	PP	NO
1	Digesa	dM1L3	Huanarpo	11/ 2017	Lima (d)	PP	NO
2	Digesa	dM2L3	Una de gato	12/ 2016	Lima (d)	PP	NO
3	Digesa	dM3L3	Hercampuri	01/ 2016	Lima (d)	PP	NO
1	DIGEMID	DM1L4	Alcachofa	11/ 2016	Lima (D)	PP	NO
2	Digesa	dM2L4	Te verde	03/ 2016	Lima (d)	PP	NO
3	Digesa	dM3L4	Chancapiedra	01/ 2018	Lima (d)	PP	NO
1	Digesa	dM1L5	Garcinia cambogia	04/2017	Lima (d)	PP	NO
2	Digesa	dM2L5	Algas marinas	07/ 2016	Lima (d)	PP	SI
3	DIGEMID	DM3L5	Caigua	10/ 2017	Lima (D)	PP	SI
1	DIGEMID	DM1L6	Algas marinas	05/ 2017	Lima (D)	PP	NO
2	DIGEMID	DM2L6	Hercampuri	12/ 2016	Lima (D)	PP	NO
3	Digesa	dM3L6	Alcachofa	01/ 2018	Lima (d)	PP	NO

Donde: PA= Principio Activo, Vencido= vencimiento, Procedencia= procedencia.

Tabla N°2. Cuadro de codificaciones para las muestras de cápsulas rígidas de plantas medicinales

Muestra	Registro Sanitario	Código Muestra
1	DIGEMID	M1L1
2	Digesa	M2L1
3	Digesa	M3L1
1	Digesa	M1L2
2	Digesa	M2L2
3	Digesa	M3L2
1	Digesa	M1L3
2	Digesa	M2L3
3	Digesa	M3L3
1	DIGEMID	M1L4
2	Digesa	M2L4
3	Digesa	M3L4
1	Digesa	M1L5
2	Digesa	M2L5
3	DIGEMID	M3L5
1	DIGEMID	M1L6
2	DIGEMID	M2L6
3	Digesa	M3L6

Fuente: Confeción propia

La muestra fue codificada según el cuadro de codificación (**Tabla N°2**), ello con la finalidad de identificar las placas, también se realizó con la finalidad de dar una lectura objetiva de la muestra, evitando la influencia por la “calidad” o reputación del fabricante o la cadena de donde proviene. Fueron en total 18 muestras provenientes de 3 cadenas diferentes.

Tabla N°3. Distribución de las muestras según la institución otorgante del Registro Sanitario

Código de Muestra	Registro Sanitario	Recuento	
		DIGEMID	DIGESA
DM1L1	DIGEMID	1	-
dM2L1	Digesa	-	1
dM3L1	Digesa	-	1
dM1L2	Digesa	-	1
dM2L2	Digesa	-	1
dM3L2	Digesa	-	1
dM1L3	Digesa	-	1
dM2L3	Digesa	-	1
dM3L3	Digesa	-	1
DM1L4	DIGEMID	1	-
dM2L4	Digesa	-	1
dM3L4	Digesa	-	1
dM1L5	Digesa	-	1
dM2L5	Digesa	-	1
DM3L5	DIGEMID	1	-
DM1L6	DIGEMID	1	-
DM2L6	DIGEMID	1	-
dM3L6	Digesa	-	1
TOTAL		5	13

Fuente: Confección propia

La **Tabla N°3** se describe a la muestra de potes con capsulas con plantas medicinales según la Institución otorgante del Registro Sanitario, se aprecia que la gran mayoría (13 muestras de un total de 18) de laboratorios obtiene un registro sanitario en la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), frente a una minoría (5 muestras de un total de 18) que obtiene un registro sanitario de la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID). Llama la atención que una institución responsable de otorgar registros sanitarios a alimentos y bebidas otorgue registro sanitario a productos con una forma farmacéutica como son las cápsulas rígidas que corresponden al tipo de formas farmacéuticas solidas orales. Y que además en su contenido presenten un relleno pulverulento correspondiente a reputadas especies vegetales medicinales. En el cuadro también se observa que un mismo

laboratorio (Ej. Las muestras asignados del grupo **DM1L1** y **DM1L4**) tengan cuatro productos con registro otorgado por DIGESA y dos productos por DIGEMID. Otros en cambio todos los productos muestreados son en su totalidad con registro sanitario otorgado por DIGESA, y ninguno de estos laboratorios presenta en su totalidad a todos sus productos con registro sanitario de DIGEMID, con relación a este último grupo denominado 6 es el único que contaba con dos muestras de tres con registro sanitario de DIGEMID.

3.2. CONTENIDO MICROORGANISMOS

Para la determinación del contenido de microorganismos (Bacterias Aerobias Viables, Enterobacterias, Salmonella-Shiguella, hongos y levaduras), primero se estableció un cuadro de diluciones. Para ello se preparó conforme al método descrito anteriormente 3 diluciones 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , cada dilución por triplicado, se incubó a la temperatura y tiempo conforme la técnica de recuento para cada microorganismo; luego de la incubación, en todos los casos el conteo de UFC fue imposible por la abundancia de estas impidiendo un conteo adecuado, es por ello que se tuvieron que realizar más diluciones a fin de obtener placas con 30 a 300 colonias.

En la **Tabla N°4** se puede observar el resumen de las diluciones realizadas para cada muestra y la distribución según la institución otorgante del registro sanitario, cabe notar que en cada dilución se trabajó por triplicado, haciendo un total de 9 placas para cada muestra (tres por cada dilución).

Tabla N°4. Diluciones de las muestras según la institución otorgante del Registro Sanitario

Registro sanitario	Muestra	Diluciones realizadas x triplicado			Total	
		10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹		
DIGEMID	M1L1	3	3	3	9	
	M1L4	3	3	3	9	
	M3L5	3	3	3	9	
	M1L6	3	3	3	9	
	M2L6	3	3	3	9	
DIGESA	M2L1	3	3	3	9	
	M3L1	3	3	3	9	
	M1L2	3	3	3	9	
	M2L2	3	3	3	9	
	M3L2	3	3	3	9	
	M1L3	3	3	3	9	
	M2L3	3	3	3	9	
	M3L3	3	3	3	9	
	M2L4	3	3	3	9	
	M3L4	3	3	3	9	
	M1L5	3	3	3	9	
	M2L5	3	3	3	9	
	M3L6	3	3	3	9	
	Total		54	54	54	162

Fuente: Confección propia

3.2.1. RECUESTO DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS VIABLES

Para reportar el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en la muestra fue necesario recopilar todos los conteos en placa realizados según la metodología propuesta por la FDA. Se tomó en consideración la menor dilución en donde se logró contar menos de 300 colonias y se procedió a realizar la conversión del conteo para el reporte de los resultados en UFC/ml.

En la **Tabla N° 5**, podemos observar el conteo de las muestras diluidas de 10⁻⁷, 10⁻⁸ y 10⁻⁹ por triplicado para cada muestra, encontrándose en las muestras con registro sanitario por DIGEMID valores muy cercanos entre sí en los tres duplicados por cada dilución realizada, mientras que en las

muestras con registro sanitario de DIGESA, además de encontrarse datos similares por cada dilución se encontraron datos incontables de las muestras M3L1, M3L2, M1L3 y M3L4 esto se puede deber a que la carga microbiana en la muestra excede los rangos normales y por lo tanto se puede decir que el producto está altamente contaminado.

Tabla N.º5 .Conteo de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables

Reg. San.	M	10 ⁻⁷			10 ⁻⁸			10 ⁻⁹		
DIGEMID	M1L1	10	15	13	8	9	7	3	4	8
	M1L4	13	11	14	6	9	5	8	6	7
	M3L5	16	15	15	9	7	10	8	5	5
	M1L6	13	10	15	10	8	7	7	5	7
	M2L6	10	10	15	10	5	5	8	2	5
DIGESA	M2L1	36	33	30	36	33	41	11	14	9
	M3L1	I	I	I	I	I	I	I	I	I
	M1L2	39	35	31	31	40	34	11	10	8
	M2L2	39	36	42	40	33	28	13	15	14
	M3L2	I	I	I	I	I	I	I	I	I
	M1L3	I	I	I	I	I	I	I	I	I
	M2L3	39	34	37	35	28	38	15	12	9
	M3L3	40	39	34	32	39	33	9	15	11
	M2L4	42	35	38	28	39	34	12	15	12
	M3L4	I	I	I	I	I	I	I	I	I
	M1L5	34	30	32	37	39	33	12	8	13
M2L5	36	30	38	35	33	30	8	13	13	
M3L6	I	I	I	I	I	I	I	I	I	

Fuente: Confección propia
I= Incontables

Todos los conteos realizados se recopilaron en tablas tomando en consideración la dilución, tipo de registro sanitario que posee y tipo de microorganismo del que se realizó el conteo en placa. Luego, se hizo uso de la fórmula propuesta por el FDA:

$$N = \frac{\sum c}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) + (0,01 \times n_3)] \times d} \quad (\text{Ecuación No 1})$$

N = Unidades Formadoras de Colonias(UFC) por ml o g de producto

$\sum C$ = *Sumatoria de todas las colonias contadas en placa*

n₁ = Numero de placas en la dilución 1

$n_2 =$ Numero de placas en la dilución 2

$n_3 =$ Numero de placas en la dilución 3

$d =$ Dilución de donde el primer conteo se logró obtener

A partir de esta fórmula se hizo el reemplazo de cada uno de los términos de la ecuación con su correspondiente. Las “n1”, “n2” y “n3” se les reemplazó por 3 ya que se realizó 3 placas por cada dilución.

$$N = \frac{\Sigma c}{[(1 \times 3) + (0,1 \times 3) + (0,01 \times 3)] \times d} \quad (\text{Ecuación No 2})$$

Una vez reemplazados los términos se procedió a realizar la ecuación a fin de reducir la ecuación y tener un único coeficiente para ΣC que dé como resultado N.

$$N = \frac{\Sigma c}{[(1 \times 3) + (0,1 \times 3) + (0,01 \times 3)] \times d} \quad (\text{Ecuación No 3})$$

$$N = \frac{\Sigma c}{[(3) + (0,3) + (0,03)] \times d} \quad (\text{Ecuación No 4})$$

$$N = \frac{\Sigma c}{[3,33] \times d} \quad (\text{Ecuación No 5})$$

El término “d” se reemplazó por 10^{-7} para el caso de bacterias y 10^{-3} para el caso de hongos y levaduras.

$$N_{\text{bacterias}} = \frac{\Sigma c}{[3,33] \times 10^{-7}} \quad (\text{Ecuación No 6})$$

$$N_{\text{bacterias}} = \Sigma C / (3,33 \times 10^{-7}) \quad (\text{Ecuación No 7})$$

$$N_{\text{hongos y levaduras}} = \frac{\Sigma c}{[3,33] \times 10^{-3}} \quad (\text{Ecuación No 8})$$

$$N_{\text{hongos y levaduras}} = \Sigma C / (3,33 \times 10^{-3}) \quad (\text{Ecuación No 9})$$

Una vez obtenido el coeficiente que necesita cada tabla para su conversión según la fórmula propuesta por la FDA, se procedió a realizar la sumatoria de todas las colonias contadas en placa (ΣC) según la ecuación No 1 de las tres diluciones preparadas por triplicado para las muestras en estudio, observándose los resultados obtenidos en la Tabla N°6.

Tabla N.º6. Conteo y sumatoria de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables

Reg. San.	M	10^{-7}			10^{-8}			10^{-9}			ΣC
DIGEMID	M1L1	10	15	13	8	9	7	3	4	8	77
	M1L4	13	11	14	6	9	5	8	6	7	79
	M3L5	16	15	15	9	7	10	8	5	5	90
	M1L6	13	10	15	10	8	7	7	5	7	82
	M2L6	10	10	15	10	5	5	8	2	5	70
DIGESA	M2L1	36	33	30	36	33	41	11	14	9	243
	M3L1	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
	M1L2	39	35	31	31	40	34	11	10	8	239
	M2L2	39	36	42	40	33	28	13	15	14	260
	M3L2	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
	M1L3	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
	M2L3	39	34	37	35	28	38	15	12	9	247
	M3L3	40	39	34	32	39	33	9	15	11	252
	M2L4	42	35	38	28	39	34	12	15	12	255
	M3L4	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
	M1L5	34	30	32	37	39	33	12	8	13	238
	M2L5	36	30	38	35	33	30	8	13	13	236
	M3L6	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I

Fuente: Confección propia
I= Incontables

En la **Tabla N° 7**, se puede ver la sumatoria de todas las colonias contadas en placa (ΣC) calculado de todas las muestras, donde se le multiplicó por el coeficiente obtenido anteriormente con la fórmula propuesta por la FDA. Donde utilizamos la Ecuación No 7 para el caso de bacterias y la ecuación No 9 para hongos y levaduras. Dándonos como resultado las UFC/mL o UFC/g presentes en el producto evaluado.

Otro hecho de importancia que cabe resaltar y que diferencia también a los contenidos de encapsulados otorgados por DIGEMID fue de que en cinco muestras (M3L1, M3L2, M1L3, M3L4 y M3L6), por más que se trabajó con las mismas diluciones, se observó un número incontable de UFC de Bacterias Aerobias Mesófilas viables.

Por ultimo podemos decir que los valores obtenidos en cada muestra de cada laboratorio se encuentran fuera de los rangos establecidos según la organización mundial de la salud (OMS) para Bacterias Aerobias Mesófilas viables no siendo aptas para el consumo de la población.

Tabla N.º7. Reporte final en UFC de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables

Reg. San.	M	10^{-7}		10^{-8}			10^{-9}		ΣC	UFC/ml		
DIGEMID	M1L1	10	15	13	8	9	7	3	4	8	77	2.31E+08
	M1L4	13	11	14	6	9	5	8	6	7	79	2.37E+08
	M3L5	16	15	15	9	7	10	8	5	5	90	2.70E+08
	M1L6	13	10	15	10	8	7	7	5	7	82	2.46E+08
	M2L6	10	10	15	10	5	5	8	2	5	70	2.10E+08
DIGESA	M2L1	36	33	30	36	33	41	11	14	9	243	7.30E+08
	M3L1	I	I	I	I	I	I	I	I	I	0	I
	M1L2	39	35	31	31	40	34	11	10	8	239	7.18E+08
	M2L2	39	36	42	40	33	28	13	15	14	260	7.81E+08
	M3L2	I	I	I	I	I	I	I	I	I	0	I
	M1L3	I	I	I	I	I	I	I	I	I	0	I
	M2L3	39	34	37	35	28	38	15	12	9	247	7.42E+08
	M3L3	40	39	34	32	39	33	9	15	11	252	7.57E+08
	M2L4	42	35	38	28	39	34	12	15	12	255	7.66E+08
	M3L4	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
	M1L5	34	30	32	37	39	33	12	8	13	238	7.15E+08
	M2L5	36	30	38	35	33	30	8	13	13	236	7.09E+08
M3L6	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	

Fuente: Confección propia
I= Incontables

Después de las diluciones realizadas a partir de las cápsulas con plantas medicinales en polvo con Registro Sanitario de DIGEMID y DIGESA de diferentes cadenas de boticas procedimos con la evaluación estadística comparando ambos registros sanitarios y posteriormente se realizo la prueba de t-student, los cuales presentaron diferencia significativa para el caso de ambos registros sanitarios.

3.2.1.1. ESTADÍSTICA DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS VIABLES

Tabla N°8. Análisis estadístico descriptivo para el numero de UFC/ml de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables

	REGISTRO SANITARIO	
	DIGEMID	DIGESA
UFC/ml	2.31 x10 ⁸	7.30 x10 ⁸
	2.37 x10 ⁸	7.18x10 ⁸
	2.70 x10 ⁸	7.81x10 ⁸
	2.46 x10 ⁸	7.42x10 ⁸
	2.10 x10 ⁸	7.57x10 ⁸
	-	7.66x10 ⁸
	-	7.15x10 ⁸
	-	7.09x10 ⁸
Recuento	5	8
Promedio	2.39 x10 ⁸ +/-2.71 x10 ^{7b}	7.40x10 ⁸ +/-2.19 x10 ^{7a}
Mediana	2.3700x10 ⁸	7.3600 x10 ⁸
Desviación Estándar	2.1902x10 ⁷	2.6240x10 ⁷
Coefficiente de Variación	9.1717%	3.5471%
Mínimo	2.10x10 ⁸	7.09x10 ⁸
Máximo	2.70x10 ⁸	7.81x10 ⁸
Rango	6.00 x10 ⁷	7.20 x10 ⁷
Sesgo Estandarizado	0.230841	0.462254
Curtosis Estandarizada	0.419612	-0.757446
t-student		-35.5037
Valor-P		1.0638 x10 ⁻¹²

Fuente: Confección propia

Con los datos obtenidos se procedió a realizar la diferencia de los valores de UFC/mL de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables. En la **Tabla N°8**, los resultados para el registro sanitario otorgado por DIGEMID se observó que el promedio fue de

$2.39 \times 10^8 \pm 2.71 \times 10^7$, la desviación estándar es 2.1902×10^7 , sesgo estandarizado 0.230841 y por último la curtosis estandarizada es de 0.419612. Así mismo tenemos que para el registro sanitario otorgado por DIGESA, los resultados obtenidos en cuanto al promedio fue de $7.40 \times 10^8 \pm 2.19 \times 10^7$, la desviación estándar es 2.6240×10^7 , el sesgo estandarizado fue de 0.462254 y para culminar la curtosis estandarizada fue de -0.757446. Siendo el sesgo y la curtosis menores a 2 los cuales nos indican que nuestros resultados siguen una distribución normal.

También podemos decir no son aptas para consumo humano ya que todas superan los límites permisibles establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

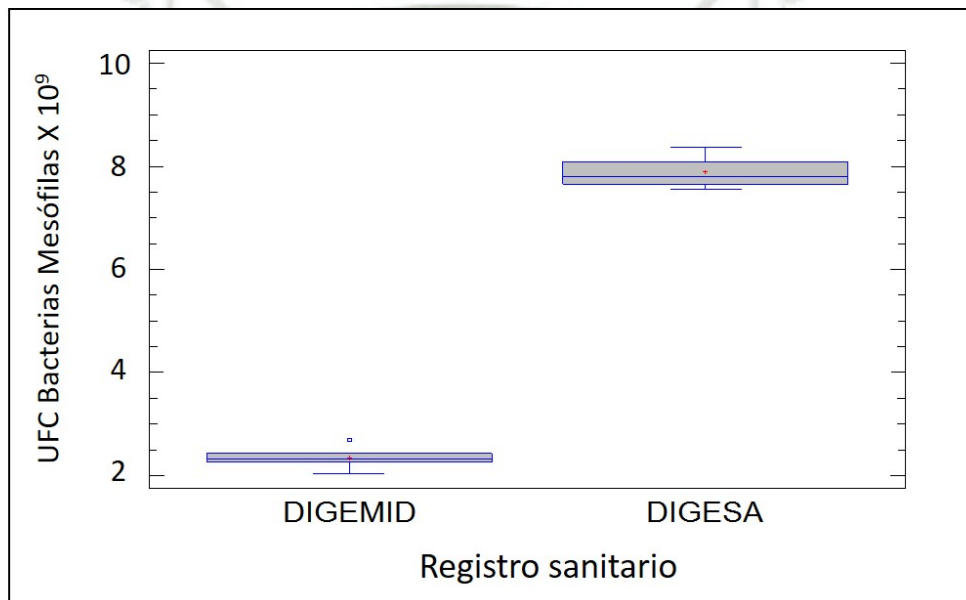


Figura N° 10. Diagrama de caja y bigotes para UFC de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables según Registro Sanitario

Siendo la muestra con registro sanitario de DIGESA que tuvo un aumento en los rangos de UFC/mL de Bacterias Aerobias Mesófilos que la muestra de registro sanitario de DIGEMID (Ver **Figura N° 10**), donde nos señala la diferencia entre ambos registros sanitarios. Posteriormente al realizar la prueba t-student respectiva, suponiendo varianzas iguales, se obtuvo un $t = -35.5037$ y un valor $p = 1.0638 \times 10^{-12}$, siendo este menor a 0.05, confirmando que si existe diferencia estadísticamente significativa a un 95 % de confianza entre los registros sanitarios de DIGEMID y DIGESA.

Para corroborar si ambos registros sanitarios tanto de DIGEMID y DIGESA de las muestras de cápsulas con plantas medicinales en polvo son aptos para el consumo de la población se comparó de acuerdo a la normativa de la Organización Mundial de la salud (OMS) y para verificar esto se procedió a realizar un análisis de varianza (ANOVA), con una ($p < 0.05$) para establecer si existe o no diferencia significativa entre el promedio de los rangos de UFC/mL de Bacterias Aerobias Mesófilas de los registros sanitarios y si cumplen con la normativa señalada.

En la **Tabla N° 8** y **Figura N°11**, se puede determinar que se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) en los rangos de UFC/mL de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables de los registros sanitarios. Encontrándose en el gráfico de caja y bigotes que ambos registros sanitarios difieren de la normativa señalada, es decir que ambos registros sanitarios sobrepasan los valores permisibles aceptados por la OMS, siendo no aptos para el consumo humano de estos fitofármacos.

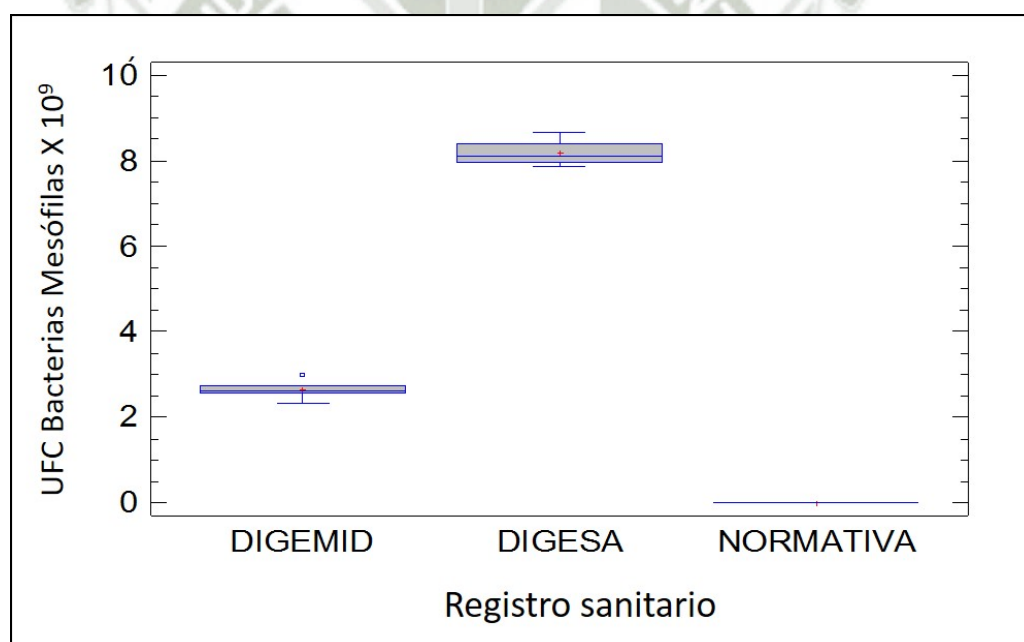


Figura N°11. Diagrama de caja y bigotes para UFC de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables según Registro Sanitario y Normativa

Tabla N° 9. Análisis de varianza para el número de UFC/ml de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Registro Sanitario	1.29091×10^{18}	2	6.4545610^{17}	1149.47	0.0000

Residuo	6.7383×10^{15}	12	5.6152510^{14}
Total (corregido)	1.2976510^{18}	14	

En la **Tabla N° 9**, se muestra el análisis de comparación de las medias obtenidas por DIGEMID Y DIGESA, con los resultados obtenidos es que se procedió a hacer la comparación múltiple de DUNNET que a continuación se observaría en la **Tabla N° 10**.

Tabla N°10. Comparaciones Múltiples por método de Dunnet para el número de UFC/ml de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables

Contraste	Sig.	Diferencia
DIGEMID - OMS	*	2.3879×10^8
DIGESA - OMS	*	7.3974×10^8

* denota una diferencia estadísticamente significativa.

En la **Tabla N°10**, se muestran los resultados de las comparaciones múltiples por el método de Dunnet para ver las diferencias entre los registros sanitarios versus la OMS la cual nos indica que existen diferencias significativas entre los Registros Sanitarios y que además sobrepasan los límites permisibles por la OMS; Según el Instituto Nacional de Salud y la Organización Mundial de la Salud (OMS) los límites permisibles de contaminación microbiana no más de 10^4 bacterias aeróbicas por g o ml. Se ha colocado un asterisco adyacente a 2 pares, indicando que estos pares muestran una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0%. Es decir, no se está cumpliendo en su totalidad con las Buenas Prácticas de Manufactura y por lo tanto se debiera tener más control con los productos expendidos en cadenas de boticas por ser lugares de “confianza” al momento de adquirir este tipo de fitofármacos por una gran cantidad de usuarios. Cabe resaltar que para dar mayor nivel de confianza a los resultados obtenidos se trabajo con una placa control, que sirvió como blanco teniendo el mismo trato que las placas en

estudio, según metodología lo indica, dándonos como resultado cero crecimiento lo cual significa que no pudo existir ningún contaminante externo.

3.2.2. RECUESTO DE ENTEROBACTERIAS

Para reportar el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en la muestra fue necesario recopilar todos los conteos en placa realizados según la metodología propuesta por la FDA. Se tomó en consideración la menor dilución en donde se logró contar menos de 300 colonias y se procedió a realizar la conversión del conteo para el reporte de los resultados en UFC/ml.

En la **Tabla N° 11**, podemos ver el conteo de las muestras diluidas de 10^{-7} , 10^{-8} y 10^{-9} por triplicado para cada muestra, encontrándose en las muestras con registro sanitario por DIGEMID valores muy cercanos entre sí en los tres duplicados por cada dilución realizada.

Tabla N°11. Conteo de Enterobacterias

Reg. San.	M	10^{-7}			10^{-8}			10^{-9}		
DIGEMID	M1L1	100	98	95	92	89	85	55	57	59
	M1L4	96	98	99	95	99	84	44	43	58
	M3L5	100	96	96	92	98	90	51	43	54
	M1L6	103	96	96	93	81	97	39	56	54
	M2L6	103	95	99	80	95	84	46	58	53
DIGESA	M2L1	96	63	110	10	9	12	26	25	34
	M3L1	92	92	98	60	56	61	52	60	45
	M1L2	77	94	89	55	62	57	19	17	8
	M2L2	79	86	92	68	69	53	34	9	38
	M3L2	81	69	105	61	59	63	41	19	9
	M1L3	100	71	86	60	59	53	5	17	8
	M2L3	101	107	90	50	55	55	34	26	19
	M3L3	67	71	69	68	51	62	15	24	24
	M2L4	82	89	90	64	68	48	39	31	33
	M3L4	108	79	73	62	55	58	29	9	7
	M1L5	102	86	71	50	67	55	5	31	32
M2L5	97	108	71	65	59	67	12	28	31	
M3L6	79	108	93	48	68	63	40	14	36	

Fuente: Confección propia

Una vez obtenido los resultados del conteo de las diluciones realizadas a cada placa por triplicado se realizó su conversión según la fórmula propuesta por la FDA,

procediéndose a realizar la sumatoria de todas las colonias contadas en placa (ΣC) según la ecuación No 1 para las muestras en estudio, observándose los resultados obtenidos en la **Tabla N°12**.

Tabla N.º12. Conteo y sumatoria de Enterobacterias

Reg. San.	M	10^{-7}		10^{-8}		10^{-9}				ΣC	
DIGEMID	M1L1	100	98	95	92	89	85	55	57	59	730
	M1L4	96	98	99	95	99	84	44	43	58	716
	M3L5	100	96	96	92	98	90	51	43	54	720
	M1L6	103	96	96	93	81	97	39	56	54	715
	M2L6	103	95	99	80	95	84	46	58	53	713
DIGESA	M2L1	96	63	110	10	9	12	26	25	34	385
	M3L1	92	92	98	60	56	61	52	60	45	616
	M1L2	77	94	89	55	62	57	19	17	8	478
	M2L2	79	86	92	68	69	53	34	9	38	528
	M3L2	81	69	105	61	59	63	41	19	9	507
	M1L3	100	71	86	60	59	53	5	17	8	459
	M2L3	101	107	90	50	55	55	34	26	19	537
	M3L3	67	71	69	68	51	62	15	24	24	451
	M2L4	82	89	90	64	68	48	39	31	33	544
	M3L4	108	79	73	62	55	58	29	9	7	480
	M1L5	102	86	71	50	67	55	5	31	32	499
	M2L5	97	108	71	65	59	67	12	28	31	538
M3L6	79	108	93	48	68	63	40	14	36	549	

Fuente: Confección propia
I= Incontables

En la **Tabla N° 13**, se puede ver la sumatoria de todas las colonias contadas en placa (ΣC) calculado de todas las muestras, donde se le multiplicó por el coeficiente obtenido anteriormente con la fórmula propuesta por la FDA. Donde utilizamos la Ecuación No 7 para el caso de bacterias. Dándonos como resultado las UFC/mL o UFC/g presentes en el producto evaluado.

También podemos decir que los resultados obtenidos para el contenido de Enterobacterias se aprecia que las muestras con registro sanitario otorgado por DIGESA, tienen unas lecturas un tanto diversas muestra a muestra y según el factor

de dilución, en este sentido se aprecia que en el caso del factor 10^{-7} existe cierta similitud en los resultados, esta similitud disminuye en los siguientes factores, ello probablemente se deba a la diversidad de muestras, y también a que cada factor de dilución corresponde a una dilución en particular y cada vez menor, esto probablemente – al ser más diluida – tenga efecto en la sensibilidad del método.

Tabla N.º13: Reporte final en UFC de Enterobacterias

Reg. San.	M	10^{-7}			10^{-8}			10^{-9}			ΣC	UFC/ml
DIGEMID	M1L1	100	98	95	92	89	85	55	57	59	730	2.19E+09
	M1L4	96	98	99	95	99	84	44	43	58	716	2.15E+09
	M3L5	100	96	96	92	98	90	51	43	54	720	2.16E+09
	M1L6	103	96	96	93	81	97	39	56	54	715	2.15E+09
	M2L6	103	95	99	80	95	84	46	58	53	713	2.14E+09
DIGESA	M2L1	96	63	110	10	9	12	26	25	34	385	9.58E+08
	M3L1	92	92	98	60	56	61	52	60	45	616	1.85E+09
	M1L2	77	94	89	55	62	57	19	17	8	478	1.44E+09
	M2L2	79	86	92	68	69	53	34	9	38	528	1.59E+09
	M3L2	81	69	105	61	59	63	41	19	9	507	1.52E+09
	M1L3	100	71	86	60	59	53	5	17	8	459	1.38E+09
	M2L3	101	107	90	50	55	55	34	26	19	537	1.61E+09
	M3L3	67	71	69	68	51	62	15	24	24	451	1.35E+09
	M2L4	82	89	90	64	68	48	39	31	33	544	1.63E+09
	M3L4	108	79	73	62	55	58	29	9	7	480	1.44E+09
	M1L5	102	86	71	50	67	55	5	31	32	499	1.50E+09
	M2L5	97	108	71	65	59	67	12	28	31	538	1.62E+09
M3L6	79	108	93	48	68	63	40	14	36	549	1.65E+09	

Fuente: Confección propia

Por último podemos decir que los valores obtenidos en cada muestra se encuentran fuera de los rangos establecidos según la Organización Mundial de la Salud (OMS) para Enterobacterias, comparados según el trabajo que realizó Victoria Sanchez et al (2006) quien sobre un estudio microbiológico de hierbas medicinales y su contaminación por especies de *Aspergillus* toxicogénicos, las cuales todas las muestras presentaron un desarrollo de microorganismos, existiendo una gran variabilidad en cuanto a la carga

microbiana en dichas plantas medicinales y que no son aptas para el consumo humano. Al igual que en nuestro estudio realizado presenta un crecimiento de Enterobacterias fuera de los rangos permisibles, la cual podrían implicar un riesgo para la salud ya que los resultados obtenidos ponen en evidencia deficiencias en la calidad de las buenas prácticas de manufactura emitido según el reglamento de las BPM.

3.2.2.1. ESTADÍSTICA DE ENTEROBACTERIAS

De la misma forma que para el caso de las Bacterias Mesófilas se procedió a realizar los datos estadísticos para el caso de enterobacterias a partir de las cápsulas con plantas medicinales en polvo con Registro Sanitario de DIGEMID y DIGESA de diferentes cadenas de boticas y posteriormente se le realizó la prueba de t-student, los cuales presentaron diferencia significativa para el caso de ambos registros sanitarios.

En la **Tabla N°14**, se muestran los resultados con respecto al promedio que fue de $2.15 \times 10^9 \pm 2.38 \times 10^7$ ^a para DIGEMID y para DIGESA fue de $1.68 \times 10^{10} \pm 1.15 \times 10^9$ ^b. También podemos observar la desviación estándar fue de 1.9235×10^7 para DIGEMID y para DIGESA fue de 2.1108×10^8 , así también se observó que el sesgo fue de 1.3852 para DIGEMID y para DIGESA fue de -1.80659, y por último tenemos la curtosis que fue de 1.19027 para DIGEMID y para DIGESA fue de 1.95652 que para el caso de ambos registros sanitarios de DIGEMID y DIGESA, fue menor a 2, lo que señala que los datos siguen una distribución normal.

También podemos decir no son aptas para el consumo humano ya que en un estudio realizado por Ratajczak et al (2013) que hizo un estudio sobre la calidad microbiológica de los productos farmacéuticos no estériles, tres muestras contenían Enterobacterias gran negativas, mientras que dos muestras estaban contaminadas con E. coli. Las muestras en las que la contaminación bacteriana Gram- que se hayan superado los límites de contaminación por bacterias Gram- y no se detectó E. coli, estas eran formas de dosificación oral que contienen materias primas de origen natural.

Por otra parte, si se establecieran los criterios de pureza microbiológica y si se introdujeran los requisitos para el control microbiológico. Además, del cumplimiento de las normas que están establecidas para regular los procesos del mantenimiento de la higiene del medio ambiente y la prevención de posibles contaminantes a los sitios de fabricación, se podría asegurar las condiciones de almacenamiento de las materias primas utilizadas en los procesos de producción (Reglamento del Ministerio de Salud, 2008, 2009).

Pues una vista de un rápido crecimiento que se puede observar en el sector farmacéutico, las reglas de conducta que están prescritas para el proceso de fabricación deben cumplirse para asegurar una calidad adecuada de los productos terminados. Estas directrices se compilan en forma de código de Buenas Prácticas de Manufactura.

Tabla N°14 .-Análisis estadístico descriptivo para el numero de UFC/ml de Enterobacterias

	REGISTRO SANITARIO	
	DIGEMID	DIGESA
UFC/ml	2.19 x10 ⁹	9.58 x10 ⁹
	2.15 x10 ⁹	1.85 x10 ⁹
	2.16 x10 ⁹	1.44 x10 ⁹
	2.15 x10 ⁹	1.59 x10 ⁹
	2.14 x10 ⁹	1.52 x10 ⁹
	-	1.38 x10 ⁹
	-	1.61 x10 ⁹
	-	1.35 x10 ⁹
	-	1.63 x10 ⁹
	-	1.44 x10 ⁹
	-	1.50 x10 ⁹
	-	1.62 x10 ⁹
	-	1.65 x10 ⁹
Recuento	5	13
Promedio	2.15x10 ⁹ +/-2.38x10 ⁷ ^a	1.68x10 ⁹ +/-1.15 x10 ⁹ ^b
Mediana	2.15x10 ⁹	1.52x10 ⁹
Desviación Estándar	1.9235 x10 ⁷	2.1108 x10 ⁸
Coefficiente de Variación	0.8913%	14.0446%
Mínimo	2.14 x10 ⁹	9.58 x10 ⁸

Máximo	2.19×10^9	1.85×10^9
Rango	5×10^7	8.92×10^8
Sesgo Estandarizado	1.3852	-1.80659
Curtosis Estandarizada	1.19027	1.95652
t-student	-11.0708	
Valor-P	7.9544×10^{-8}	

Fuente: Confección propia

Así fue que posteriormente se realizó la prueba de t- student correspondientes al recuento de Enterobacterias. Obteniéndose como resultados sin suponer varianzas iguales: un $t = -11.0708$ y un valor $P = 7.9544 \times 10^{-8}$, siendo menor a 0.05, por lo tanto podemos decir que los productos con registros sanitarios de DIGEMID y DIGESA son grupos diferentes y que existe diferencia significativa entre ambos (Ver **Figura N° 12**).



Figura N°12: Diagrama de caja y bigotes para UFC de Enterobacterias según registro sanitario

Los resultados mostrados en la **Tabla N°14** como en la **Figura N°12**, evidencian que existe diferencia significativa entre los registros sanitarios, teniendo un crecimiento mayor de Enterobacterias para las muestras con registro sanitario de DIGEMID que las muestras con registro sanitario de DIGESA que difieren de la normativa del cumplimiento de las Buenas Practicas de Manufactura, así como también de los valores permisibles que nos da OMS. Para corroborar dicha suposición se analizó

estadísticamente los datos entre DIGEMID y DIGESA y se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) con una ($p < 0.05$) para establecer si existe o no diferencia significativa entre las UFC/mL en los grupos de estudio.

En la **Tabla N° 14** y **Figura N° 13**, se encontraron datos que nos llevan a afirmar que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en los rangos de UFC/mL para Enterobacterias entre los dos grupos de estudio de registro sanitario con respecto a la normativa según la OMS. Observándose en el gráfico de cajas y bigotes que los grupos con registro sanitario de DIGEMID y DIGESA no se asemejan entre sí; por otro lado se comparó con la normativa indicada por la OMS para la fabricación de cápsulas con plantas medicinales en polvo. Llegando a estar los dos registros sanitarios fuera de los rangos establecidos por la OMS. Por lo tanto no siendo aptas para el consumo por parte de la población.

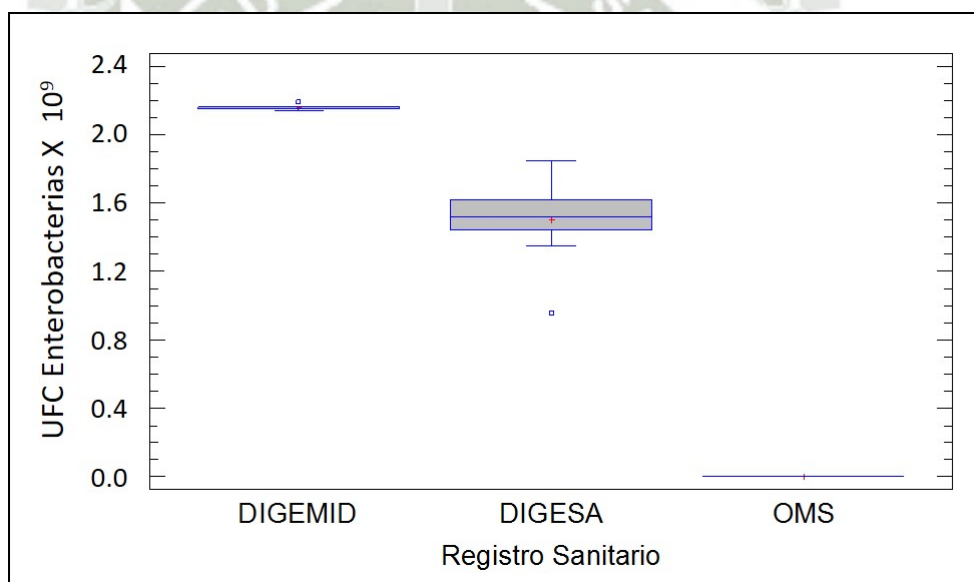


Figura N°13: Diagrama de caja y bigotes para UFC de Enterobacterias según Registro Sanitario y Normativa

Tabla N° 15. Análisis de varianza para el número de UFC/ml de Enterobacterias

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Registro Sanitario	4.23906×10^{18}	2	2.11953×10^{18}	63.25	0.0000
Residuo	5.36133×10^{17}	16	3.35083×10^{16}		
Total (corregido)	4.77519^{18}	18			

En la **Tabla N° 15**, se muestra el análisis de comparación de las medias obtenidas por DIGEMID Y DIGESA, con los resultados obtenidos es que se procedió a hacer la comparación múltiple de DUNNET que a continuación se observará en la **Tabla N° 16**.

Tabla N°16: Comparaciones Múltiples por método de Dunnet para el número de UFC/ml de Enterobacterias

Contraste	Sig.	Diferencia
DIGEMID - OMS	*	2.1580 X10 ⁸
DIGESA - OMS	*	1.5029X10 ⁸

* denota una diferencia estadísticamente significativa.

Se estableció que existen diferencias significativas en los tres grupos de estudio, sin embargo es importante saber que entre grupos existen estas diferencias para ello se realizó la prueba de comparaciones Múltiples por el método de Dunnet, los resultados se muestran en la **Tabla N° 16**. Se realizó la comparación con los datos dados por el Instituto Nacional de Salud y la Organización Mundial de la Salud (OMS) los límites permisibles de contaminación microbiana que es no más de 10² Enterobacterias por g o ml., Se ha colocado un asterisco adyacente a 2 pares, indicando que estos pares muestran una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0%. Estos datos muestran que los valores tanto del grupo con registro sanitario de DIGEMID como de DIGESA son estadísticamente significativos y diferentes con la normativa propuesta de la OMS (p< 0.05) presentando un riesgo para la salud. Es importante señalar que para dar mayor nivel de confianza a los resultados obtenidos se trabajó con una placa control, que sirvió como blanco teniendo el mismo trato que las placas en estudio, según metodología lo indica, dándonos como resultado cero crecimiento lo cual significa que no existió ningún contaminante externo.

3.2.3.RECUENTO DE SALMONELLA SHIGUELLA

Para reportar el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en la muestra fue necesario recopilar todos los conteos en placa realizados según la metodología propuesta por la FDA. Se tomó en consideración la menor dilución en donde se logró contar menos de 300 colonias y se procedió a realizar la conversión del conteo para el reporte de los resultados en UFC/mL.

En la **Tabla N° 17**, podemos ver el conteo de las muestras diluidas de 10^{-7} , 10^{-8} y 10^{-9} por triplicado para cada muestra, encontrándose en las muestras con registro sanitario por DIGEMID valores muy cercanos entre sí en los tres duplicados por cada dilución realizada.

Tabla N.º17. Conteo de Salmonella- Shiguela

Reg. San.	M	10^{-7}			10^{-8}			10^{-9}		
DIGEMID	M1L1	19	17	15	11	9	8	7	2	4
	M1L4	11	15	10	8	6	4	2	1	2
	M3L5	21	17	13	10	7	5	5	4	4
	M1L6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	M2L6	15	14	15	8	8	7	4	2	2
DIGESA	M2L1	65	166	63	74	60	13	2	4	1
	M3L1	167	153	70	56	51	66	34	22	30
	M1L2	156	154	120	29	67	29	19	4	10
	M2L2	82	84	118	55	52	44	14	5	31
	M3L2	154	144	145	53	62	44	4	5	30
	M1L3	157	85	99	73	64	25	16	5	22
	M2L3	72	62	117	29	54	31	10	8	35
	M3L3	131	155	98	36	60	55	19	6	24
	M2L4	160	75	105	59	30	32	4	23	28
	M3L4	105	116	147	32	30	43	25	35	5
	M1L5	82	154	151	72	25	74	32	31	20
	M2L5	103	161	93	30	32	26	15	11	21
M3L6	155	113	152	54	72	23	7	4	26	

Fuente: Confección propia

Una vez obtenido los resultados del conteo de las diluciones realizadas a cada placa por triplicado se realizó su conversión según la fórmula propuesta por la FDA, procediéndose a realizar la sumatoria de todas las colonias contadas en placa (ΣC)

según la ecuación No 1 para las muestras en estudio, observándose los resultados obtenidos en la **Tabla N°18**.

Tabla N.°18. Conteo y sumatoria de Salmonella-Shiguella

Reg. San.	M	$10^{^7}$		$10^{^8}$		$10^{^9}$		ΣC			
DIGEMID	M1L1	19	17	15	11	9	8	7	2	4	92
	M1L4	11	15	10	8	6	4	2	1	2	59
	M3L5	21	17	13	10	7	5	5	4	4	86
	M1L6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	M2L6	15	14	15	8	8	7	4	2	2	75
DIGESA	M2L1	65	166	63	74	60	13	2	4	1	448
	M3L1	167	153	70	56	51	66	34	22	30	649
	M1L2	156	154	120	29	67	29	19	4	10	588
	M2L2	82	84	118	55	52	44	14	5	31	485
	M3L2	154	144	145	53	62	44	4	5	30	641
	M1L3	157	85	99	73	64	25	16	5	22	546
	M2L3	72	62	117	29	54	31	10	8	35	418
	M3L3	131	155	98	36	60	55	19	6	24	584
	M2L4	160	75	105	59	30	32	4	23	28	516
	M3L4	105	116	147	32	30	43	25	35	5	538
	M1L5	82	154	151	72	25	74	32	31	20	641
	M2L5	103	161	93	30	32	26	15	11	21	492
	M3L6	155	113	152	54	72	23	7	4	26	606

Fuente: Confección propia

En la **Tabla N° 18**, se puede ver la sumatoria de todas las colonias contadas en placa (ΣC) calculado de todas las muestras, donde se le multiplicó por el coeficiente obtenido anteriormente con la fórmula propuesta por la FDA. Donde utilizamos la Ecuación No 7 para el caso de bacterias. Dándonos como resultado las UFC/mL o UFC/g presentes en el producto evaluado.

La determinación de la carga microbiana se llevó a cabo mediante recuentos microbiológicos en superficie, según las técnicas estipuladas en Anderson del

Rosario. Los resultados se expresaron como número de unidades formadoras de colonias por cada mL de muestra (UFC/mL). Una vez efectuados los recuentos, se procedió a aislar cada una de las colonias macroscópicamente diferentes.

Los resultados para el contenido de Salmonella-Shiguella se puede observar en la **Tabla N° 19** que las muestras con Registro Sanitario otorgado por DIGEMID, presentan conteos en todos los factores de dilución, a excepción de la muestra M1L6 en la que hubo ausencia de este tipo de microorganismos.

Tabla N.º19.Reporte final en UFC de Salmonella-Shiguella

Reg. San.	M		10 ⁻⁷		10 ⁻⁸			10 ⁻⁹			ΣC	UFC/ml
DIGEMID	M1L1	19	17	15	11	9	8	7	2	4	92	2.76E+08
	M1L4	11	15	10	8	6	4	2	1	2	59	1.77E+08
	M3L5	21	17	13	10	7	5	5	4	4	86	2.58E+08
	M1L6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00E+00
	M2L6	15	14	15	8	8	7	4	2	2	75	2.25E+08
DIGESA	M2L1	65	166	63	74	60	13	2	4	1	448	1.35E+09
	M3L1	167	153	70	56	51	66	34	22	30	649	1.95E+09
	M1L2	156	154	120	29	67	29	19	4	10	588	1.77E+09
	M2L2	82	84	118	55	52	44	14	5	31	485	1.46E+09
	M3L2	154	144	145	53	62	44	4	5	30	641	1.92E+09
	M1L3	157	85	99	73	64	25	16	5	22	546	1.64E+09
	M2L3	72	62	117	29	54	31	10	8	35	418	1.26E+09
	M3L3	131	155	98	36	60	55	19	6	24	584	1.75E+09
	M2L4	160	75	105	59	30	32	4	23	28	516	1.55E+09
	M3L4	105	116	147	32	30	43	25	35	5	538	1.62E+09
	M1L5	82	154	151	72	25	74	32	31	20	641	1.92E+09
	M2L5	103	161	93	30	32	26	15	11	21	492	1.48E+09
M3L6	155	113	152	54	72	23	7	4	26	606	1.82E+09	

Fuente: Confección propia

Por ultimo podemos decir que las muestras con registro sanitario otorgado por DIGESA, presentan conteos en todos los factores de dilución, con cierta variabilidad ello probablemente se deba a que son varias muestras, en el caso del factor de dilución 10⁻⁹ se observa un coeficiente alto en razón de que la muestra M2L1 presenta un conteo bajo en comparación con las demás muestras. Sin embargo en tanto promedio y mediana los valores se encuentran cercanos.

3.2.3.1. ESTADÍSTICA DE SALMONELLA-SHIGUELLA

Siguiendo con el mismo procedimiento de conteo de colonias para bacterias ya descritas anteriormente, se llevó a cabo el conteo para Salmonella-Shiguella. Una vez obtenidos los datos se procedió a realizar los parámetros estadísticos correspondientes para ver si los Registros Sanitarios tanto de DIGEMID y DIGESA son diferentes y si estos cumplen con la normativa señalada por la OMS para un adecuado control de calidad de cápsulas de plantas medicinales en polvo.

En la **Tabla N° 20**, se puede observar el valor del promedio que fue de $2.34 \times 10^8 \pm 6.91 \times 10^7$ ^a, con una desviación estándar de 4.3474×10^7 , un sesgo de -0.649293 y una curtosis de -0.175612 para el registro sanitario de DIGEMID y para el registro sanitario de DIGESA se obtuvo un promedio de $1.65 \times 10^9 \pm 1.40 \times 10^8$ ^b, con una desviación estándar de 2.2492×10^8 , un sesgo de -0.391326 y una curtosis de -0.761664 . Lo cual nos indica que ambos datos obtenidos siguen una distribución normal. Cabe resaltar que el promedio y la desviación estándar de DIGEMID fue mayor la del registro sanitario de DIGESA. Sin embargo ambas están fuera de los rangos establecidos de la OMS.

Posteriormente se realizó la prueba t-student, correspondiente a los niveles de Salmonella en las muestras utilizadas. Obteniéndose un valor $t = -21.4814$ y un valor $P = 2.9363 \times 10^{-12}$, sin suponer varianzas iguales con un nivel de confianza del 95%. Por lo tanto se puede decir que los grupos con Registro Sanitario de DIGEMID y DIGESA son diferentes, es decir que existe una diferencia significativa entre ambos grupos en estudio.

Por tanto se concluye que las muestras con registro sanitario de DIGESA presentan un mayor aumento en las UFC/mL para el recuento de bacterias del género Salmonella-Shiguella a los datos de los registros sanitarios de DIGEMID como se puede ver en la **Figura N° 15**. Sin embargo los rangos de ambos Registros Sanitarios difieren de los rangos establecidos por la Organización Mundial de Salud.

Tabla N°20. Análisis estadístico descriptivo para el número de UFC/ml de Salmonella-Shiguella

REGISTRO SANITARIO		
	DIGEMID	DIGESA
UFC/ml	2.76x10 ⁸	1.35 x10 ⁹
	1.77 x10 ⁸	1.95 x10 ⁹
	2.58 x10 ⁸	1.77 x10 ⁹
	2.25 x10 ⁸	1.46 x10 ⁹
	-	1.92 x10 ⁹
	-	1.64 x10 ⁹
	-	1.26 x10 ⁹
	-	1.75 x10 ⁹
	-	1.55 x10 ⁹
	-	1.62 x10 ⁹
	-	1.92 x10 ⁹
	-	1.48 x10 ⁹
	-	1.82 x10 ⁹
Recuento	4	13
Promedio	2.34 x10 ⁸ +/- 6.91 x10 ^{7a}	1.65x10 ⁹ +/- 1.40 x10 ^{8b}
Mediana	2.415 x10 ⁸	1.64 x10 ⁹
Desviación Estándar	4.3474 x10 ⁷	2.2492 x10 ⁸
Coefficiente de Variación	18.5787%	13.6062%
Mínimo	1.77 x10 ⁸	1.26 x10 ⁹
Máximo	2.76 x10 ⁸	1.95 x10 ⁹
Rango	9.9 x10 ⁷	6.9 x10 ⁸
Sesgo Estandarizado	-0.649293	-0.391326

Curtosis Estandarizada	-0.175612	-0.761664
t-student	-21.4814	
Valor-P	2.9363 x 10 ⁻¹²	

Fuente: Confección propia

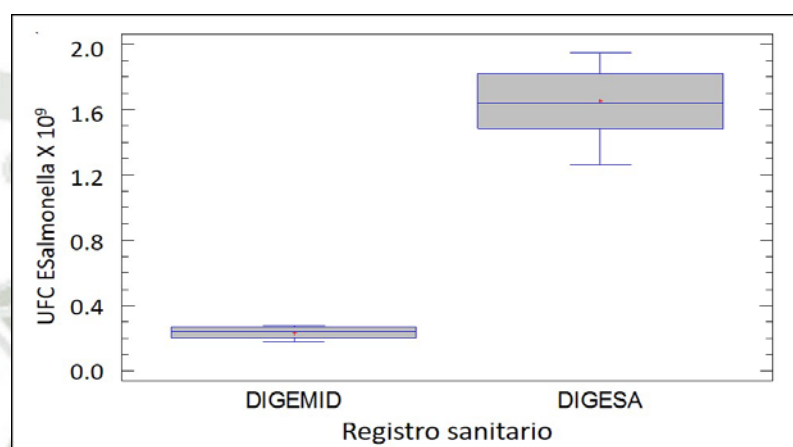


Figura N° 14. Diagrama de caja y bigotes para UFC de Salmonella-Shiguella según Registro Sanitario

Dados los resultados mostrados en la **Tabla N° 20** y **Figura N° 14**, pretenden suponer que los registros sanitarios tanto de DIGEMID y DIGESA están dentro los valores normales para Salmonella-Shiguella emitidos por la OMS. Para corroborar dicha suposición se analizó estadísticamente los datos de los Registros Sanitarios con la norma señalada y se aplicó un Análisis de Varianza (ANOVA), con una ($p < 0.05$) para establecer si existe o no diferencia significativa entre los niveles de promedio de los registros sanitarios en los tres grupos de estudio.

En la **Tabla N° 20** y **Figura N° 15**, se encontraron datos que nos llevan a afirmar que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en las concentraciones de los registros sanitarios comparados de acuerdo a la normatividad emitida por la OMS. Observándose en el gráfico de cajas y bigotes que los grupos de las muestras para DIGEMID y DIGESA difieren entre sí y se alejan de la normatividad de la OMS.

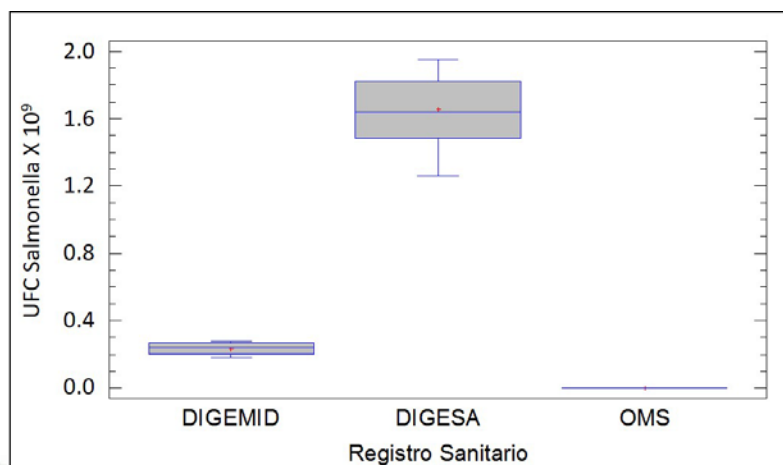


Figura N°15. Diagrama de caja y bigotes para UFC de Salmonella-Shiguella según Registro Sanitario y Normativa

Tabla N°21. Análisis de varianza para el número de UFC/ml de Salmonella-Shiguella

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Registro Sanitario	9.27389x 10 ¹⁸	2	4.63694x10 ¹⁸	121.08	0.0000
Residuo	6.12747x10 ¹⁷	16	3.82967x10 ¹⁶		
Total (corregido)	9.88663x10 ¹⁸	18			

En la **Tabla N° 21**, se muestra el análisis de comparación de las medias obtenidas por DIGEMID Y DIGESA, con los resultados obtenidos es que se procedió a hacer la comparación múltiple de DUNNET que a continuación se observará en la **Tabla N° 22**.

Tabla N°22. Comparaciones Múltiples por método de Dunnet para el número de UFC/ml de Salmonella-Shiguella

Contraste	Sig.	Diferencia
DIGEMID – OMS	*	2.3400 x10 ⁸
DIGESA – OMS	*	1.6530 x10 ⁹

* Denota una diferencia estadísticamente significativa.

Se tuvo ya establecido que existen diferencias significativas entre los Registros Sanitarios y la Normativa de la OMS, sin embargo es importante saber que

grupos están fuera de los rangos señalados por la OMS para un adecuado control de calidad de capsulas con plantas medicinales en polvo para ello se realizó la prueba de Múltiples comparaciones mediante el método de Dunnet, los resultados se muestran en la **Tabla N° 22**. Se procedió a realizar la comparación con los valores dados por el Instituto Nacional de salud y la Organización Mundial de la Salud (OMS) cuyo límite permisible de contaminación microbiana es ausencia de *Salmonella-Shiguella* por g o ml.(48). Se ha colocado un asterisco adyacente a 2 pares, lo que indica que estos pares muestran una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0%. Estos datos muestran que los valores de los registros sanitarios de DIGEMID y DIGESA son estadísticamente significativos y diferentes a la normativa señalada ($p < 0.05$). Pues estos fitofármacos no deben ser comercializados por que representan un peligro inminente para la salud de la población. Así como en las anteriores casos para dar un nivel de confianza mayor a los resultados obtenidos se trabajo con una placa control, que sirvió como blanco teniendo el mismo trato que las placas en estudio, según metodología lo indica, dándonos como resultado cero crecimiento lo cual significa que no existió ningún contaminante externo

3.2.4.RECUENTO DE HONGOS Y LEVADURAS

Para reportar el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en la muestra fue necesario recopilar todos los conteos en placa realizados según la metodología propuesta por la FDA. Se tomó en consideración la menor dilución en donde se logró contar menos de 300 colonias y se procedió a realizar la conversión del conteo para el reporte de los resultados en UFC/ml

En la **Tabla N° 23**, podemos ver el conteo de las muestras diluidas de 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} por triplicado para cada muestra, encontrándose en las muestras con Registro Sanitario por DIGEMID valores muy cercanos entre sí en los tres duplicados por cada dilución realizada.

Tabla N.º23. Conteo de Hongos y Levaduras

Reg. San.	M	10^{-3}			10^{-4}			10^{-5}		
DIGEMID	M1L1	14	17	8	6	15	14	13	9	10
	M1L4	18	8	15	16	8	7	5	7	14
	M3L5	16	9	14	7	9	11	10	11	7

	M1L6	16	13	11	8	13	8	8	10	2
	M2L6	17	15	9	8	11	10	11	13	13
	M2L1	11	6	9	15	1	4	13	30	15
	M3L1	30	28	32	18	13	12	5	4	7
	M1L2	19	23	14	17	5	15	3	3	4
	M2L2	22	24	32	14	14	17	10	10	11
	M3L2	16	16	27	14	13	10	7	8	11
DIGESA	M1L3	29	17	29	17	13	11	6	10	4
	M2L3	15	23	24	6	14	12	10	8	9
	M3L3	25	12	19	4	12	13	10	5	3
	M2L4	29	29	13	7	14	14	8	8	8
	M3L4	28	20	21	10	16	14	7	13	3
	M1L5	20	26	16	12	6	11	12	13	5
	M2L5	27	25	32	15	8	5	5	5	10
	M3L6	13	26	22	10	8	10	12	5	12

Fuente: *Confeción propia*

Una vez obtenido el coeficiente que necesita cada tabla para su conversión según la fórmula propuesta por la FDA, se procedió a realizar la sumatoria de todas las colonias contadas en placa (ΣC) según la ecuación No 1 de las tres diluciones preparadas por triplicado para las muestras en estudio, observándose los resultados obtenidos en la **Tabla N°24**

Tabla N.°24. Conteo y sumatoria de Hongos y Levaduras

Reg. San.	M	10^{-3}		10^{-4}		10^{-5}		ΣC			
DIGEMID	M1L1	14	17	8	6	15	14	13	9	10	106
	M1L4	18	8	15	16	8	7	5	7	14	98
	M3L5	16	9	14	7	9	11	10	11	7	94
	M1L6	16	13	11	8	13	8	8	10	2	89
	M2L6	17	15	9	8	11	10	11	13	13	107
	M2L1	11	6	9	15	1	4	13	30	15	104
DIGESA	M3L1	30	28	32	18	13	12	5	4	7	149
	M1L2	19	23	14	17	5	15	3	3	4	103
	M2L2	22	24	32	14	14	17	10	10	11	154
	M3L2	16	16	27	14	13	10	7	8	11	122
	M1L3	29	17	29	17	13	11	6	10	4	136
	M2L3	15	23	24	6	14	12	10	8	9	121
	M3L3	25	12	19	4	12	13	10	5	3	103
	M2L4	29	29	13	7	14	14	8	8	8	130
	M3L4	28	20	21	10	16	14	7	13	3	132
	M1L5	20	26	16	12	6	11	12	13	5	121
	M2L5	27	25	32	15	8	5	5	5	10	132
M3L6	13	26	22	10	8	10	12	5	12	118	

Fuente: Confección propia

En la **Tabla N° 25**, se puede ver la sumatoria de todas las colonias contadas en placa (ΣC) calculado de todas las muestras, donde se le multiplicó por el coeficiente obtenido anteriormente con la fórmula propuesta por la FDA. Donde utilizamos la ecuación No 9 para hongos y levaduras. Dándonos como resultado las UFC/mL o UFC/g presentes en el producto evaluado.

Cabe resaltar que en todas las muestras tanto de DIGEMID y DIGESA se encuentran fuera de los rangos establecidos según la Organización Mundial de la Salud (OMS) para Hongos y Levaduras no siendo aptas para el consumo de la población.

Tabla N.º25. Reporte final en UFC de Hongos y Levaduras

Reg. San.	M	10^{-3}			10^{-4}			10^{-5}			ΣC	UFC/ml
DIGEMID	M1L1	14	17	8	6	15	14	13	9	10	106	3.99E+04
	M1L4	18	8	15	16	8	7	5	7	14	98	2.94E+04
	M3L5	16	9	14	7	9	11	10	11	7	94	2.82E+04
	M1L6	16	13	11	8	13	8	8	10	2	89	2.67E+04
	M2L6	17	15	9	8	11	10	11	13	13	107	3.21E+04
DIGESA	M2L1	11	6	9	15	1	4	13	30	15	104	3.12E+04
	M3L1	30	28	32	18	13	12	5	4	7	149	4.47E+04
	M1L2	19	23	14	17	5	15	3	3	4	103	3.09E+04
	M2L2	22	24	32	14	14	17	10	10	11	154	4.62E+04
	M3L2	16	16	27	14	13	10	7	8	11	122	3.66E+04
	M1L3	29	17	29	17	13	11	6	10	4	136	4.08E+04
	M2L3	15	23	24	6	14	12	10	8	9	121	3.63E+04
	M3L3	25	12	19	4	12	13	10	5	3	103	3.09E+04
	M2L4	29	29	13	7	14	14	8	8	8	130	3.90E+04
	M3L4	28	20	21	10	16	14	7	13	3	132	3.96E+04
	M1L5	20	26	16	12	6	11	12	13	5	121	3.63E+04
M2L5	27	25	32	15	8	5	5	5	10	132	3.96E+04	
M3L6	13	26	22	10	8	10	12	5	12	118	3.54E+04	

Fuente: Confección propia

En la **Tabla N° 26** se muestran los resultados del análisis estadístico realizado para el

contenido de hongos y levaduras. También se puede observar el valor del promedio que fue de $3.12 \times 10^4 \pm 6.48 \times 10^3$, con una desviación estándar de 5.2194×10^4 , un sesgo de 1.37936 y una curtosis de 1.04174 para el Registro Sanitario de DIGEMID y para Registro Sanitario de DIGESA se obtuvo un promedio de $3.75 \times 10^4 \pm 2.94 \times 10^3$, con una desviación estándar de 4.8682×10^4 , con el sesgo de 0.315493 y una curtosis de -0.365931. Lo cual corresponden que los datos obtenidos siguen una distribución normal.

Tabla N°26. Análisis estadístico descriptivo para el numero de UFC/ml de Hongos y Levaduras

	REGISTRO SANITARIO	
	DIGEMID	DIGESA
UFC/ml	3.99×10^4	3.12×10^4
	2.94×10^4	4.47×10^4
	2.82×10^4	3.09×10^4
	2.67×10^4	4.62×10^4
	3.21×10^4	3.66×10^4
	-	4.08×10^4
	-	3.63×10^4
	-	3.09×10^4
	-	3.90×10^4
	-	3.96×10^4
	-	3.63×10^4
	-	3.96×10^4
	-	3.54×10^4
Recuento	5	13
Promedio	$3.12 \times 10^4 \pm 6.48 \times 10^3$	$3.75 \times 10^4 \pm 2.94 \times 10^3$
Mediana	2.94×10^4	3.66×10^4
Desviación Estándar	5.2194×10^4	4.8682×10^4
Coefficiente de Variación	16.69%	12.98%
Mínimo	2.67×10^4	3.09×10^4
Máximo	3.99×10^4	4.62×10^4

Rango	1.32 x10 ⁴	1.53 x10 ⁴
Sesgo Estandarizado	1.37936	0.315493
Curtosis Estandarizada	1.04174	-0.365931
t-student	-2.39146	
Valor-P	0.0294147	

Fuente: Confección propia

Posteriormente se realizó la prueba t-student, correspondiente a los niveles de hongos y levaduras en las muestras utilizadas. Obteniéndose un valor $t = -2.39146$ y un valor $P = 0.0294147$, suponiendo varianzas iguales con un nivel de confianza del 95%. Por lo tanto se puede decir que los grupos con Registro Sanitario de DIGEMID y DIGESA son diferentes, es decir que existe una diferencia significativa entre ambos grupos en estudio.

Según Forsythe, (2002) nos menciona que en la microbiología el objetivo principal es garantizar productos saludables e inocuos y así evitar el deterioro de los mismos y por eso el objetivo de nuestro proyecto de investigación. Por tanto se concluye que las muestras con registro sanitario de DIGESA presentan un mayor aumento en las UFC/mL para el recuento de hongos y levaduras a los datos de los registros sanitarios de DIGEMID como se puede ver en la **Figura N° 16**.

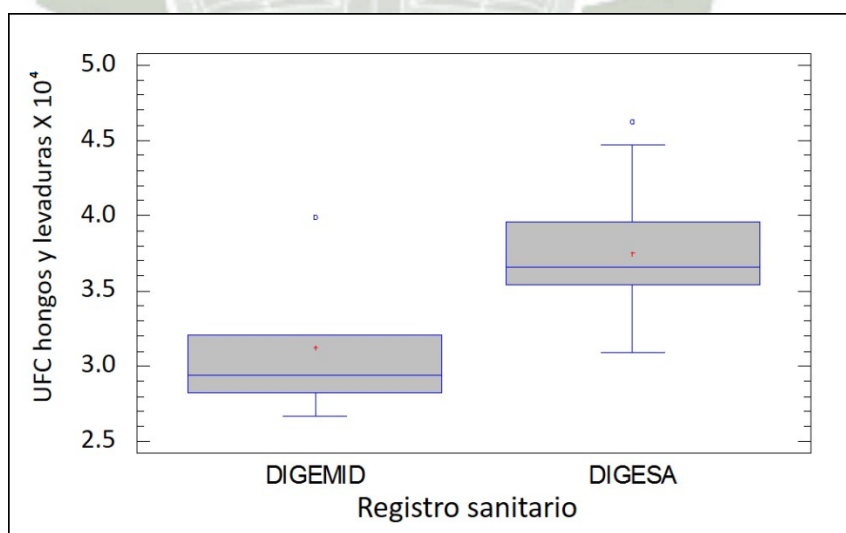


Figura N° 16. Diagrama de caja y bigotes para UFC de Hongos y Levaduras según Registro Sanitario

Dados los resultados mostrados en la **Tabla N° 26** y **Figura N° 16**, pretenden suponer que los registros sanitarios de DIGEMID y DIGESA presentan una diferencia estadística significativa. Para corroborar dicha suposición se analizó estadísticamente los datos y se aplicó un Análisis de Varianza (ANOVA), con una ($p < 0.05$) para establecer si existe o no diferencia significativa entre los rangos de los registros sanitarios comparados con los límites permisibles establecidos por la Organización Mundial de la Salud.

Pues para obtener información acerca de la calidad microbiológica de un producto según Forsythe (2002), es necesario llevar a cabo análisis microbiológicos que permitan determinar la presencia de los mismos y así poder controlar a los establecimientos que expenden estos fitofármacos y sean aptos para el consumo humano.

Es por esta razón que en la **Tabla N° 26** y **Figura N° 17**, se encontraron datos que nos llevan a afirmar que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en los rangos de los Registros Sanitarios de DIGEMID y DIGESA en comparación con lo reglamentado por la OMS. Observándose en el **Figura N° 18** gráfico de cajas y bigotes que los valores de los registros sanitarios de DIGEMID y DIGESA se encuentran casi cercanos pero estos dos datos están muy alejados a lo que sujeta la norma de la OMS para el control de hongos y levaduras.

Ya que según Agnese et al (2002) considerar que el consumo de preparados a partir de plantas medicinales (extractos, tinturas, infusiones, etc.) es una de las prácticas arraigadas en la sociedad y por ende estos Fitofármacos adquiridos por parte de la población tienen que estar cumpliendo los reglamentos establecidos por la OMS. Lo cual en este estudio se evidencia que no hay un control exhaustivo sobre las evaluaciones del control microbiológico y las buenas prácticas de manufactura por parte de las autoridades responsables.

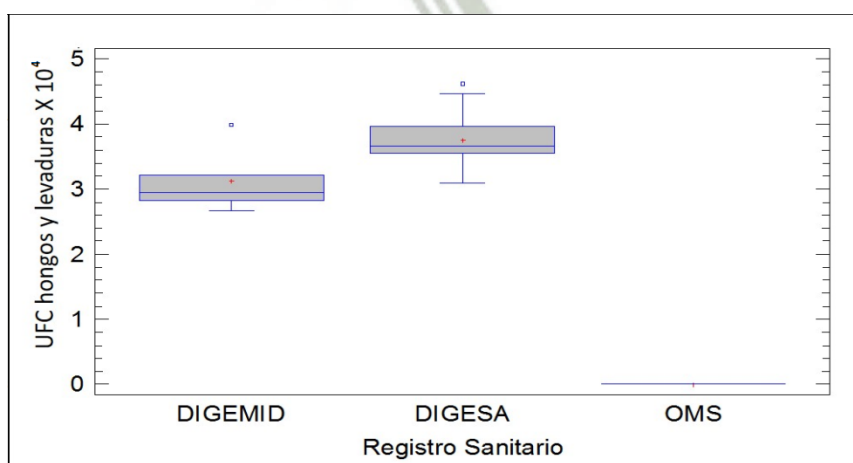


Figura N°17. Diagrama de caja y bigotes para UFC de Hongos y Levaduras según Registro Sanitario y Normativa

Tabla N° 27. Análisis de varianza para el número de UFC/ml de Hongos y Levaduras

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Registro Sanitario	1.34577×10^9	2	6.72883×10^8	27.37	0.0000
Residuo	3.93372×10^8	16	2.45858×10^7		
Total (corregido)	1.73914×10^9	18			

En la **Tabla N°27**, se muestra el análisis de comparación de las medias obtenidas por DIGEMID Y DIGESA, con los resultados obtenidos es que se procedió a hacer la comparación múltiple de DUNNET que a continuación se observaría en la **Tabla N° 28**.

Tabla N°28. Comparaciones Múltiples por método de Dunnet para el número de UFC/ml de Hongos y Levaduras

Contraste	Sig.	Diferencia
DIGEMID - OMS	*	3.116×10^4
DIGESA - OMS	*	3.74×10^4

* denota una diferencia estadísticamente significativa.

En la **Tabla N°28**, se muestran los resultados de las comparaciones múltiples por el método de Dunnet para ver las diferencias entre los registros sanitarios versus la OMS la cual nos indica que existen diferencias significativas entre los registros sanitarios y que además sobrepasan los límites permisibles por la OMS; Es así que para un mejor entendimiento se comparó con el valor dado por el Instituto Nacional de Salud y la Organización Mundial de la Salud (OMS) no más de 10^2 hongos y levaduras por g o ml.

Se ha colocado un asterisco adyacente a 2 pares, indicando que estos pares muestran una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0%. Es decir, no se está cumpliendo en su totalidad con las Buenas Prácticas de Manufactura y por lo tanto se debiera tener más control

con los productos expendidos en cadenas de boticas por ser lugares de “confianza” al momento de adquirir este tipo de fitofármacos por una gran cantidad de usuarios. Es importante señalar que para dar mayor nivel de confianza a los resultados obtenidos se trabajó con una placa control, que sirvió como blanco teniendo el mismo trato que las placas en estudio, según metodología lo indica, dándonos como resultado cero crecimientos lo cual significa que no existió ningún contaminante externo.

1.15. APTITUD PARA EL CONSUMO HUMANO

Tabla N°10: Comparaciones Múltiples por método de Dunnet para el número de UFC/ml de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables

Contraste	Sig.	Diferencia
DIGEMID - OMS	*	2.3879 X10 ⁸
DIGESA - OMS	*	7.3974 X10 ⁸

* denota una diferencia estadísticamente significativa.

Tabla N°16: Comparaciones Múltiples por método de Dunnet para el número de UFC/ml de Enterobacterias

Contraste	Sig.	Diferencia
DIGEMID - OMS	*	2.1580 X10 ⁸
DIGESA - OMS	*	1.5029X10 ⁸

* denota una diferencia estadísticamente significativa

Tabla N°22: Comparaciones Múltiples por método de Dunnet para el número de UFC/ml de Salmonella-Shiguella

Contraste	Sig.	Diferencia
DIGEMID - OMS	*	2.3400 x10 ⁸
DIGESA - OMS	*	1.6530 x10 ⁹

* denota una diferencia estadísticamente significativa

Tabla N°28: Comparaciones Múltiples por método de Dunnet para el número de UFC/ml de Hongos y Levaduras

Contraste	Sig.	Diferencia
DIGEMID - OMS	*	3.116×10^4
DIGESA - OMS	*	3.74×10^4

* denota una diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis de la aptitud del consumo humano fue necesario el cálculo del promedio de todos los factores de dilución, y en base a este resultado y considerando los mínimos establecidos como regla de decisión se procedió a realizar un gráfico de barras con las muestras con los Registro Sanitarios de DIGEMID y DIGESA en las muestras evaluadas y en relación a los parámetros microbiológicos establecidos en el presente estudio (Bacterias Aerobias Mesófilas, Enterobacterias, *Salmonella-Shiguella* y Hongos y Levaduras). Según el Instituto Nacional de Salud y la Organización Mundial de la Salud (OMS) los límites permisibles de contaminación microbiana para preparaciones de administración oral conteniendo materiales crudos de origen natural son los siguientes: No más de 10^4 bacterias aeróbicas por g o ml., no más de 10^2 Enterobacterias por g o ml., ausencia de *Salmonella-Shiguella* por g o ml.(48), no más de 10^2 hongos y levaduras por g o ml.

En la **Figura N°18**, se observa un gráfico de barras del análisis microbiológico de las muestras de cápsulas rígidas con plantas medicinales con los registros sanitarios de DIGEMID y DIGESA. Donde podemos apreciar que para el caso de bacterias aerobias presentó un alto contenido que las muestras con registros sanitarios de DIGESA que las muestras de DIGEMID, para el caso de las Enterobacterias presentó una elevada contaminación de las muestras con registro sanitario de DIGEMID que DIGESA y para el conteo microbiológico para salmonella fue altísimo para las muestras con registro sanitario de DIGESA que las muestras con registro sanitario de DIGEMID y por ultimo se puede observar que hay un crecimiento considerable de hongos y levaduras, para este caso los productos con Registro Sanitario por DIGESA son mayores en comparación con los de DIGEMID.

Por lo tanto podemos concluir que dichos fitofármacos expendidos por diferentes cadenas de boticas farmacéuticas de la ciudad de Arequipa no tienen un control permanente por parte de las entidades responsables sobre una

adecuada elaboración y manufactura de estos fitofármacos y que son un peligro que atenta contra la salud de la población.

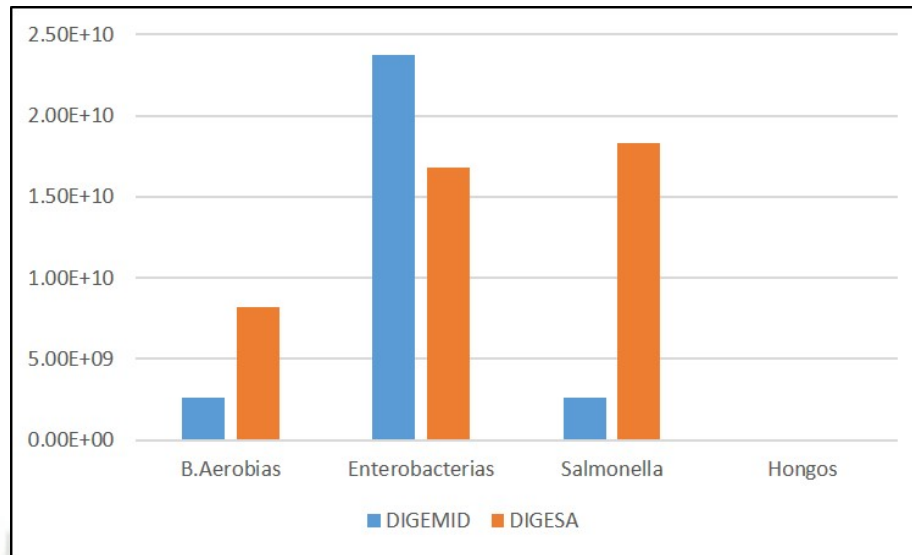
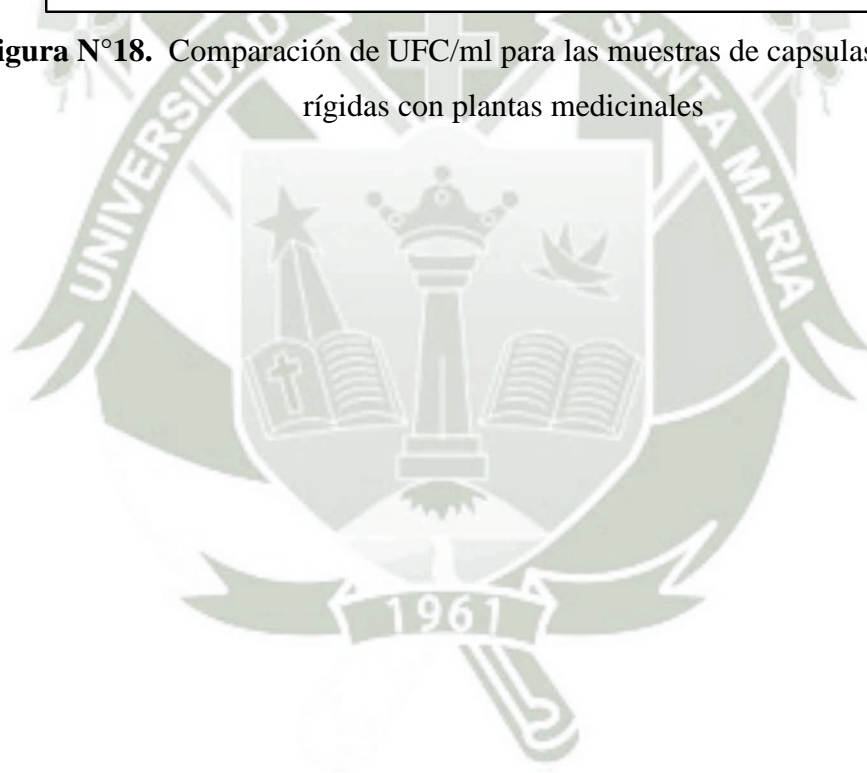


Figura N°18. Comparación de UFC/ml para las muestras de cápsulas rígidas con plantas medicinales



CONCLUSIONES

PRIMERA

Luego de la evaluación de los contenidos según el promedio general de los factores de dilución de las 18 muestras (5 con registro sanitario de DIGEMID y 13 de DIGESA) se estableció que todas las muestras no son aptas para consumo humano ya que todas superan los límites permisibles establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Así también se concluyó que las muestras de DIGEMID tienen un menor crecimiento de bacterias comparado con los de DIGESA pero ello no cambia el estatus de NO apto para el consumo humano.

SEGUNDA

Se determinó el contenido bacteriano de Aerobias Mesófilos Viables fue un promedio de 2.39×10^8 resultado obtenido para los productos de DIGEMID, así también se encontró que el promedio fue de 7.40×10^8 para DIGESA, al hacer comparación con los rangos establecidos por la OMS se halló una notable diferencia, encontrando como resultado que los productos no son aptos para el consumo humano dado que el crecimiento bacteriano fue casi el doble a lo permisible.

TERCERA

Se determinó el contenido de Enterobacterias para las muestras analizadas encontrándose un promedio de 2.15×10^9 para DIGEMID; así también se encontró para DIGESA un resultado de promedio de 1.68×10^{10} lo cual evidencia que no son aptos para el consumo humano haciendo una comparación con los valores permisibles de la OMS.

CUARTA

Se determinó el contenido para Salmonella-Shiguelia; siendo los resultados para productos DIGEMID un promedio de 2.34×10^8 así mismo se halló el resultado para DIGESA un promedio de 1.65×10^9 en ambos casos estos valores

superan los valores permisibles lo cual significa que no son aptos para el consumo humano.

QUINTA

Se determino el contenido para hongos y levaduras hallándose como resultado de promedio de 3.12×10^4 para DIGEMID y para DIGESA un promedio de 3.75×10^4 en ambos casos superan a los valores establecidos por la OMS, obteniendo como conclusión que no son aptos para el consumo humano.



SUGERENCIAS

PRIMERA

Realizar estudios de control microbiológico de otros productos naturales disponibles en cadenas de boticas y otros establecimientos de ventas.

SEGUNDA

Revisar la legislación de registro sanitario a fin de hacer propuestas cuyo objetivo sea modificar adecuadamente la comercialización y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos tipo medicamentos herbarios.

TERCERA

Realizar controles de calidad relacionados con la identidad y pureza del relleno de capsulas rígidas cuya composición sean plantas medicinales en estado pulverulento.

FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

1. Arias M, Chaves C, Alfaro L. Análisis Microbiológico de algunas infusiones de hierbas medicinales. Universidad de Costa Rica;1999.
2. Ashutosh Kar. Pharmaceutical Microbiology.1ª Edition. Published by New Age International;2008.
3. Atán J, Valenciano L. Análisis Microbiológico de Plantas Medicinales Empacadas para el consumo humano. (Tesis). San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica.
4. Análisis microbiológico de plantas medicinales con óxido de etileno.(Sitio Internet) disponible en:
http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol41_2_07/far08207.htm
5. Análisis microbiológico de materias primas utilizadas en la elaboración de productos naturales en una industria colombiana. (Sitio Internet) disponible en:
<http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis251.pdf>
6. Bernard Henry J. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. 9ª Edición. México: Ediciones Científicas y Técnicas S.A ;1994.
7. Black G. Microbiology principales applications (4ª edition). Prentice Hall. Upper Saddle River; New Jersey;1999.
8. Castillo García E, Martínez Solís I. Manual de Fitoterapia. 1ª Edición. Editorial Elsevier Masson; 2007.
9. Collins H. Ylyne P.Métodos Microbiológicos. 5ª Edición. España SA. Editorial Acribia;1989.
10. Córdova Callo L. Determinación de la actividad antimicrobiana de las semillas de *carica papaya* l “papaya” *in vitro* frente a las cepas atcc *Staphylococcus Aureus* y *Escherichia Coli*. Universidad Católica de Santa María. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa; 2013.
11. Davis M.D. Dulbecco R. (Eds.) (1996) Tratado de microbiología Barcelona: Masson, S.A.

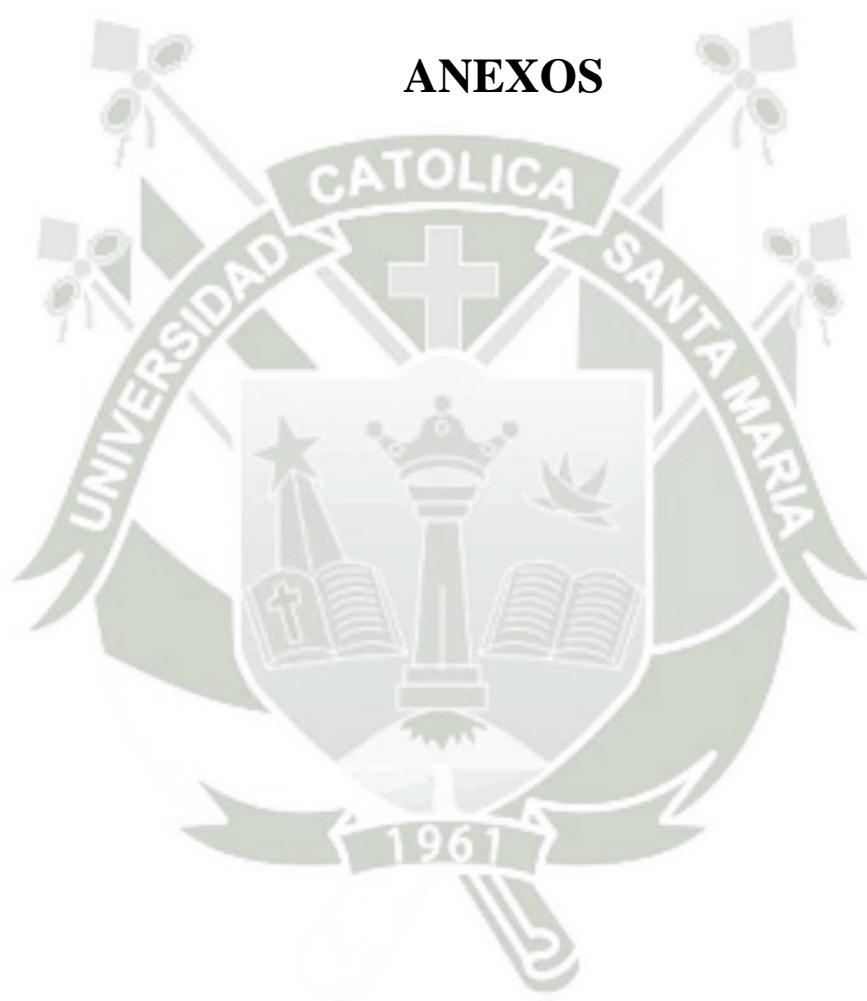
12. Díaz R, Gamazo C, López Goñi I. Manual Práctico de Microbiología 2ª Edición. Editorial Masson;1999.
13. Delgado Iribarren Alberto y otros. Laboratorio de Microbiología. 1ª Edición. España D.F.: Editorial McGraw Hill Interamericana ;1994.
14. Delgado Alberto. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio Organización Mundial de la Salud. 3ªEdición. Ginebra. Suiza;2005.
15. Edwards, P.R. y W.H. Ewing (1972) identification of enterobacteriaceae Minneapolis: Burgess publishing Co.
16. Engelkirk P, Duben Engelkirk J. Microbiology for the health sciences. 10ª Edition. Lippincott Williams Wilkins;2015.
17. Ernest Jawetz (1985) Microbiología Medica 36-39
18. Evaluación de la calidad de la raíz de panaxginseng (ginseng) que se distribuye en centros naturistas de la ciudad de Guatemala”. (Sitio Internet) disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2562.pdf
19. Elaboración y control de calidad de comprimidos fitofármacos de ajenojo (Artemisia absinthium L.) romero (Rosmarinus officinalis L.) y manzanilla (Matricaria chamomilla L.) para combatir la menstruación dolorosa. (Sitio Internet) disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/391/1/56T00202.pdf>
20. Fitoterapia. definicion. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Fitoterapia>. Acceso el 23/03/2016
21. Fitofarmaco definicion. Disponible en:<http://www.schwabe.com.mx/fito/queson.html>. Acceso 23/03/2016
22. Gacula, MC; Singh, J. 1984. Statistical methods in food and consumer research. Academic Press Inc., Orlando. p. 505.
23. Gallardo Troncoso M. Acción antimicrobiana de un desinfectante de uso industrial y domésticos sobre cepas de Staphylococcus Aureus y Escherichia Coli. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Santiago de Chile ;2006.

24. García Martos P. Microbiología clínica aplicada. 3ª Edición. Madrid. Ediciones Díaz de Santos S.A; 1997.
25. García Rodríguez A, Picazo J. Compendio de microbiología médica. 1ª Edición Editorial Harcout Brace. ;2006.
26. Gonzáles Alfaro José. Laboratorio de Microbiología. 1ª Edición. Editorial Ciencias Médicas. La Habana-Cuba; 2004
27. Guillamas C. Gutiérrez E. Hernando A. Higiene del medio hospitalario y limpieza del material. 1ª Edición. España. Editex Madrid ;2009.
28. James Robbers, Varro Tyle . Las Hierbas medicinales de Tyler. 1ª Edición. Editorial Acribia; 2003.
29. Jawetz E., Melnick J., Adelberg E., (1990) Microbiología Medica (19a) México: El manual moderno, S.A. de C.V.
30. Kaufman Peter, Duke James, and Briemann Harry. Natural Products from plants. Second Edition. Taylor and Francis Group .2006.
31. Ketchum P. Microbiología conceptos y aplicaciones .John Wiley and Sons Chichester, 1988.
32. Kayser Fritz .Medycal Microbiology. 10ª Edition. Editorial Thieme,2005.
33. Lansing M, Prescott John, P Harley, Donald A. Microbiologic McGraw-Hill, Madrid; (2004) .
34. Lahite H J, Hurrel J, Belgrano M. Plantas medicinales Rioplatenses. Buenos Aires: Editorial L.O.L.A; 1998.
35. Lavado y desinfección de *Ocimumbasilicum* L. var. *lactucaefolium*. I (Sitio Internet) disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102847962002000200006&script=sci_arttext
36. Liping Qua, Wenjun Zou, Zhenxiang Zhou, Tingmo Zhang , Jan Vander Greef, MeiWang. Non-European traditional herbal medicines in Europe: A community herbal monograph perspective. 2014
37. Martínez M .Calidad microbiológica de yerba mate. Tesis de grado de Laboratorista Químico Industrial. Universidad Nacional de Misiones; 2007.

38. Maguilla E, Prado M, Amodeo C, Ortiz L, López M. Introducción microbiológica. 2ª ed. Madrid: Sm; 2009.
39. Ministerio de Justicia. Sistema Peruano de Información Jurídica SPIJ. Versión setiembre; 2014.
40. Montoya Núñez J, Ortega M, y Cabrera J. “Aspecto reglamentarios sobre medicamento fitoterápico Farmacognosia”, Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba; 2001.
41. Montgomery, DC. 2003. Diseño y análisis de experimentos. Limusa Wiley, México D.F. p. 686
42. Morán Gómez M.E. “Evaluación de la calidad de la raíz de Panax Ginseng (Ginseng) que se distribuye en centros naturistas de la ciudad de Guatemala”. 2007
43. Murray P. R. Microbiología Médica. Mosby (Elsevier Science),2006.
44. Murray P. R., Baron E., Michael A. Pfaller, Fred C. Tenover y Robert H. Tenover, Manual of clinical microbiology Washington: ASM PRESS. 1995
45. Núñez E. Plantas medicinales de Costa Rica. San José Universidad de Costa Rica; 1978.
46. Park K, Chess B. Foundations in Microbiology. 8ª Edition McGraw Hill. United States;2012.
47. Prescott L. M. Harley J. P. y Klein D. A. Microbiología. 4ª edición. McGraw. Hill Interamericana.
48. Prescott L.M. Microbiología (4ª edición). McGraw Hill Interamericana, Madrid, 1996.
49. Pelczar J. Reid D. y Chan E.C.S. Microbiología 6ª ed. Mc Graw Hill. México;2000.
50. Rowe R. Sheskey P. Owen Shandbook of pharmaceutical excipientes. 5ª Edición. (Editores)..PharmaceuticalPress;2006.
51. Roig Juan T. Diccionario botánico de nombre vulgares cubanos. La Habana: Ciencia y Técnica; 1998.
52. Raper B, Fennell D. “The genus Aspergillus”, Williams and Wilkins Co. Baltimore;(1965).

53. Sesia P. “Medicina tradicional, herbolaria y salud”, CIESAS, México (IWO).(1992).
54. Sharapin Nikolai. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. 1ª Edición. CYTED. Santa de Bogotá, Colombia.2000.
55. Tipos de Fitofarmacos. Disponible en: <http://www.schwabe.com.mx/fito/queson.html> Acceso 23/03/2016
56. Tortora Funke .Introducción a la Microbiología. 9ª Edición. Editorial Médica Panamericana.2007.
57. Torres Ramirez M. L. “Análisis microbiológico de materias primas utilizadas en la elaboración de productos naturales en una industria colombiana”. 2006 .
58. Vanaclocha B, Cañigual S. Fitoterapia Vademecum de Prescripción. 4ª Edición, Editorial Masson.2003.
59. Vargas S, Plantas Medicinales, San José, Grafo Print S.A; 1993.
60. Walker, Stuart. Microbiología. 1ª Edición, Editorial .McGraw Hill;1999.
61. World Health Organization. Quality Control Methods for medicinal plant materials; 1992.
62. Wayne Daniel. Bioestadística , base para el análisis de las ciencias de la salud. 4ª Edición. México: Editorial Limusa S.A; 2007.
63. Sánchez V, González A.M &. Lurá M.. Análisis Microbiológico de Hierbas Medicinales y su Contaminación por Especies de *Aspergillus* Toxicogénicos. 2006.
64. Niko S. Radulovic, Pavle J. Randjelovic, Nikola M. Stojanovic, Polina D. Blagojevic, Zorica Z. Stojanovic´-Radic, Ivan R. Ilic, Vidosava B. Djordjevic. Toxic essential oils. Part II: Chemical, toxicological, pharmacological and microbiological profiles of *Artemisia annua* L. volatiles. 2013.
65. Wasburton D. W., Brodsky M. H. The microbiological quality of “Health foods” sold in Ontario, Canada. 1992

ANEXOS



ANEXO N° 1

REGLAMENTO PARA EL REGISTRO, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS, DISPOSITIVOS MÉDICOS Y PRODUCTOS SANITARIOS

(ART. 78 AL 91)

Es el Reglamento para el Registro, Control y Vigilancia Sanitaria de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios; Decreto Supremo N° 016-2011-SA que establece las pautas específicas para la inscripción al registro sanitario y su comercialización, a continuación los artículos de este reglamento.⁽¹⁹⁾

CAPITULO III

DE LOS MEDICAMENTOS HERBARIOS

DEL REGISTRO SANITARIO DE LOS MEDICAMENTOS

Artículo 78.- Registro sanitario de medicamentos herbarios

Los medicamentos herbarios no deben incluir en su formulación sustancias estupefacientes o psicotrópicas de origen sintético o natural, ni mezclas con medicamentos alopáticos, hormonas animales o humanas u otras sustancias obtenidas por síntesis química que contengan actividad hormonal o antihormonal o cualquier otra que represente un riesgo para la salud.

Los medicamentos herbarios pueden utilizar para su comercialización nombre comercial, nombre común o nombre científico de la planta medicinal empleada en su fórmula. El nombre del medicamento herbario no debe inducir o sugerir el uso indebido del mismo.⁽¹⁹⁾

Cuando la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios, tenga conocimiento de la OMS u otra agencia reguladora de países de alta vigilancia sanitaria u otros organismos de reconocido prestigio nacional o internacional de una planta medicinal o mezcla de ellas muestre indicios de efectos tóxicos o acumulativos, o cualquier otro riesgo para la salud, procederá conforme al artículo 8 de la ley.

Artículo 79.- De las plantas o recursos que no requieren registro sanitario

Las plantas medicinales de uso tradicional y otros recursos de origen natural de uso medicinal que se ofrezcan sin referencia a propiedades terapéuticas, diagnósticas o preventivas pueden comercializarse sin registro sanitario.

Los preparados de fórmulas magistrales y los preparados oficinales a base de plantas medicinales no requieren registro sanitario.

MEDICAMENTO HERBARIO DE USO MEDICINAL

Artículo 80.- Registro sanitario de medicamentos herbarios de uso medicinal

El registro sanitario de medicamentos herbarios de uso medicinal se otorga por nombre, forma farmacéutica, cantidad de sustancia activa, fabricante y país.

Artículo 81.- Requisitos para la inscripción y reinscripción de medicamentos herbarios de uso medicinal.

Para la inscripción y reinscripción en el registro sanitario de los medicamentos herbarios de uso medicinal el interesado debe presentar los siguientes requisitos:⁽¹⁹⁾

1. Solicitud, con carácter de declaración jurada;
2. Información general de la(s) planta(s) medicinal(es) que intervienen en la composición;
3. Especificaciones y técnica analítica de las sustancias activas, excipientes y producto terminado;
4. Validación de las técnicas analíticas propias del producto terminado;
5. Especificaciones técnicas de los materiales de envase mediato e inmediato;

6. Flujograma y validación del proceso de fabricación, identificando los atributos críticos de control y parámetros críticos de proceso de productos intermedios y producto final;
7. Estudios de estabilidad, según lo establecido en la Directiva Sanitaria correspondiente;
8. Proyecto de ficha técnica e inserto;
9. Proyecto de rotulado mediato e inmediato;
10. Certificado de identificación botánica de la especie, expedido por un Herbario nacional, internacional, universidades o institutos de investigación acreditados internacionalmente ⁽¹⁹⁾
11. Certificado de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) del fabricante nacional o extranjero emitido por la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios. Se aceptan Certificados de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) emitidos por la Autoridad competente de los países de alta vigilancia sanitaria o de los países con los cuales exista reconocimiento mutuo;
12. Certificado de producto farmacéutico o certificado de libre comercialización emitido por la Autoridad competente del país de origen o del exportador, considerando de modo preferente el modelo de la Organización Mundial de la Salud (OMS), para productos importados; ⁽¹⁹⁾

Para la inscripción en el registro sanitario de los medicamentos herbarios de uso medicinal que se encuentren registrados en países de alta vigilancia sanitaria se debe presentar, además, de los requisitos señalados en el presente artículo, información técnica que sustente la eficacia y seguridad del medicamento herbario de uso medicinal. ⁽¹⁹⁾

Los medicamentos herbarios de uso medicinal que no se encuentren registrados en países de alta vigilancia sanitaria deben presentar, además de los requisitos señalados en el presente artículo, estudios de eficacia y seguridad.

Para la reinscripción en el registro sanitario de los medicamentos herbarios de uso medicinal no será necesario presentar la información técnica o estudios que sustenten eficacia y seguridad, salvo que se hubiesen realizado modificaciones que ameriten nueva información sobre la seguridad o eficacia de los medicamentos herbarios de uso medicinal.

En el caso de los numerales 3 y 5, el interesado debe de utilizar como referencia las siguientes farmacopeas vigentes:

Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP)

Farmacopea británica;

Farmacopea europea (Unión Europea);

Farmacopea japonesa;

Farmacopea internacional de la OMS;

Farmacopea alemana;

Farmacopea brasilera;

Farmacopea helvética;

Farmacopea belga.

En defecto de las farmacopeas precedentes, rige la monografía del producto del país fabricante.

Si la sustancia activa, excipientes o productos terminados se encuentran en una o más de las farmacopeas antes mencionadas sus especificaciones técnicas deben sujetarse a lo descrito en una de ellas. En caso de modificar el método de análisis este debe ser validado.

Artículo 82°.- La Información general de la(s) planta(s) medicinal(es) que intervienen en la composición

La información general de la(s) planta(s) medicina(es) que intervienen en la composición debe contener como mínimo:

1. Nombre científico en idioma latín (familia, género, especie y, de ser el caso, variedad y autor);
2. Sinonimias de nombres científicos, cuando corresponda;
3. Nombre(s) Común(es);
4. Descripción botánica, hábitat y distribución geográfica;
5. Breve historia de la planta priorizando información bibliográfica sobre su actividad terapéutica;

6. Tipo y condiciones del cultivo (cultivado, manejado y silvestre);
7. Partes de la planta utilizada e indicar si se usa material fresco, desecado o si se somete a proceso especial;
- 8 Obtención de la planta (técnica y fecha de recolección, tratamiento post cosecha y secado);
9. Control de humedad después del secado, si corresponde;
10. Condiciones de transporte
11. Posibles adulterantes o sustituyentes enunciados por su nombre científico;
12. Información sobre la (s) sustancia (s) activa (s) y. de ser el caso, marcadores;
13. Descripción de los métodos de secado, estabilización y conservación utilizados.

Artículo 83.- Contenido de la solicitud - declaración jurada de los medicamentos herbarios de uso medicinal (19)

Para la inscripción o reinscripción en el Registro Sanitario de medicamentos herbarios de uso medicinal, el interesado debe presentar la correspondiente solicitud con carácter de declaración jurada, según formatos establecidos por la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios, la que contiene, como mínimo, la siguiente información general y técnica:⁽¹⁹⁾

1. Información general:

La señalada en los literales a) hasta i) del artículo 42 del presente Reglamento, con la salvedad que toda alusión al Ingrediente Farmacéutico Activo - IFA se entiende como sustancia activa.

2. Información técnica:

La señalada en los literales a) hasta n) del artículo 42 del presente Reglamento, excepto lo señalado en el literal b) y en el tercer y cuarto párrafo del literal c) del citado artículo; con la salvedad que toda alusión al Ingrediente Farmacéutico Activo - IFA se entiende como sustancia activa.

En el caso de extractos y tinturas, debe indicarse el solvente utilizado y la proporción entre el peso de la materia prima vegetal y el volumen de dicho solvente.

Artículo 85°.-El rotulado del envase mediato e inmediato del medicamento herbario de uso medicinal

El rotulado del envase mediato e inmediato del medicamento herbario de uso medicinal debe contener la siguiente información :

- a. Nombre del medicamento herbario de uso medicinal;
- b. Sustancia(s) activa(s) expresada(s) cualitativamente y cuantitativamente y forma farmacéutica. La cantidad de sustancia activa en la forma farmacéutica puede ser definida por unidad de dosis o como concentración, según el cuadro del Anexo N° 02 del presente Reglamento;(19)
- c. La información contenida en los literales c) al q) señalados en el artículo 44 del presente Reglamento.

Artículo 86.- Información mínima en el rotulado del envase inmediato del medicamento herbario de uso medicinal

Los envases inmediatos que por su tamaño no pueden contener toda la información a que se refiere el artículo precedente, deben consignar cuando menos:

1. En los folios, blister u otros:
 - a. Nombre del medicamento herbario y, debajo de éste, el nombre de la sustancia activa, si es una sola sustancia activa;
 - b. Número de registro sanitario;
 - c. Cantidad de la sustancia activa (expresada en unidad de dosis o concentración), para el caso de una sola sustancia activa;
 - d. Razón social o nombre comercial o logotipo que identifica al laboratorio fabricante y/o al titular del Registro Sanitario;
 - b. Número de lote y fecha de vencimiento.
2. En frascos, tubos colapsibles, ampollas, viales y otros:
 - a. Nombre del medicamento herbario y, debajo de éste, el nombre de la sustancia activa, si es una sola sustancia activa;
 - b. Número de registro sanitario;

- c. Cantidad de la sustancia activa (expresada en unidad de dosis o concentración), para el caso de una sola sustancia activa;
- d. Vía de administración;
- b. Razón social o nombre comercial o logotipo que identifica al laboratorio fabricante y/o al titular del registro sanitario;
- c. Condiciones especiales de almacenamiento, para aquellos productos que lo requieran;
- d. Número de lote y fecha de vencimiento.

Artículo 87°.- Unidad de venta mínima en envases dispensadores

Se aplica lo señalado en el artículo 46° del presente Reglamento.

Artículo 88°.- El rotulado del envase mediato de los medicamentos herbarios de uso medicinal cuya condición de venta es sin receta (19)

El rotulado del envase mediato de los medicamentos herbarios de uso medicinal cuya condición de venta es sin receta médica debe consignar lo siguiente:

1. Nombre del medicamento herbario de uso medicinal, sustancia activa, forma farmacéutica y cantidad de sustancia activa;
2. La información contenida en los numerales 2 al 9 del artículo 47 del presente Reglamento.

Artículo 89°.- Información contenida en la ficha técnica e inserto de los medicamentos herbarios

La ficha técnica contiene la información técnico-científica dirigida al profesional de salud, con el fin de garantizar un uso seguro y efectivo del medicamento herbario de uso medicinal. El contenido de la misma se describe en el Anexo N° 03 del presente Reglamento, con la salvedad que toda alusión al Ingrediente Farmacéutico Activo - IFA se entiende como sustancia activa, y el contenido de la información del inserto dirigida al paciente se describe en el artículo 48 del presente Reglamento.

Artículo 90.- De la condición de venta de los medicamentos herbarios de uso medicinal (19)

La condición de venta de los medicamentos herbarios de uso medicinal es con o sin receta médica, según lo establecido en los artículos 32, 33 del presente Reglamento.(19)

Para que un medicamento herbario de uso medicinal de venta bajo receta médica pueda cambiar a venta sin receta médica, se aplican los criterios considerados en el artículo 34° del presente Reglamento.

Artículo 91.- La codificación del registro sanitario para medicamentos herbarios de uso medicinal (19)

La codificación es de la siguiente forma:

MHN000: Medicamento herbario de uso medicinal nacional

MHE000: Medicamento herbario de uso medicinal extranjero

ANEXO N° 2

TITULO VIII DEL REGISTRO SANITARIO DE ALIMENTOS Y BEBIDAS INDUSTRIALIZADOS (ART. 101 AL 114)

CAPITULO I

Del Registro

Artículo 101. *Autoridad encargada del Registro Sanitario*

La Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) del Ministerio de Salud es el órgano encargado a nivel nacional de inscribir, reinscribir, modificar, suspender y cancelar el Registro Sanitario de los alimentos y bebidas y de realizar la vigilancia sanitaria de los productos sujetos a registro.

Artículo 102. *Obligatoriedad del Registro Sanitario*

Sólo están sujetos a Registro Sanitario los alimentos y bebidas industrializados que se comercializan en el país.

Para efectos del Registro Sanitario, se considera alimento o bebida industrializado al producto final destinado al consumo humano, obtenido por transformación física, química o biológica de insumos de origen vegetal, animal o mineral y que contiene aditivos alimentarios.

Artículo 103. *Alimentos y bebidas que no requieren de Registro Sanitario*

No están sujetos a Registro Sanitario:

- a) Los alimentos y bebidas en estado natural, estén o no envasados para su comercialización, como granos, frutas, hortalizas, carnes y huevos, entre otros.
- b) Las muestras sin valor comercial.
- c) Los productos donados por entidades extranjeras para fines benéficos.

Artículo 104. *Facultades y obligaciones derivadas del Registro Sanitario*

La obtención del Registro Sanitario de un producto faculta su fabricación o importación y comercialización por el titular del Registro, en las condiciones que establece el presente reglamento. El titular del Registro Sanitario es responsable por la calidad sanitaria e inocuidad del alimento o bebida que libera para su comercialización.

El Registro Sanitario se otorga por producto o grupo de productos y fabricante. Se considera grupo de productos aquellos elaborados por un mismo fabricante, que tienen la misma composición cualitativa de ingredientes básicos que identifica al grupo y que comparten los mismos aditivos alimentarios.

Artículo 105. *Declaración Jurada para el Registro Sanitario*

Para la inscripción o reinscripción en el Registro Sanitario se debe presentar una solicitud con carácter de Declaración Jurada suscrita por el interesado, en la que debe consignarse la siguiente información:

- a) Nombre o razón social, domicilio y número de Registro Unificado de la persona natural o jurídica que solicita el registro.
- b) Nombre y marca del producto o grupo de productos para el que se solicita el Registro Sanitario.
- c) Nombre o razón social, dirección y país del fabricante.
- d) Resultados de los análisis físico-químicos y microbiológicos del producto terminado, procesado por el laboratorio de control de calidad de la fábrica o por un laboratorio acreditado en el Perú.
- e) Relación de ingredientes y composición cuantitativa de los aditivos, identificando a estos últimos por su nombre genérico y su referencia numérica internacional.
- f) Condiciones de conservación y almacenamiento.
- g) Datos sobre el envase utilizado, considerando tipo y material.

- h) Período de vida útil del producto en condiciones normales de conservación y almacenamiento.
- i) Sistema de identificación del lote de producción.
- j) Si se trata de un alimento o bebida para regímenes especiales, deberá señalarse sus propiedades nutricionales.

Adjuntos a la solicitud deben presentarse el Certificado de Libre Comercialización y el Certificado de Uso si el producto es importado, así como el comprobante de pago por concepto de Registro.

Artículo 106. Codificación del Registro Sanitario

La codificación del Registro Sanitario se hará de la siguiente forma:

RSA 000N (Registro Sanitario de Alimentos 000 Nacional) para producto nacional.

RSA 000E (Registro Sanitario de Alimentos 000 Extranjero) para producto importado.

Artículo 107. Tramitación de la solicitud de Registro Sanitario

La solicitud de inscripción o reinscripción de productos en el Registro Sanitario será admitida a trámite, siempre que el expediente cumpla con los requisitos que se establecen en la ley y en el presente reglamento.

Dentro del plazo de siete (7) días útiles a que se refiere el Artículo 92 de la Ley General de Salud, la DIGESA podrá denegar la expedición del documento que acredita el número de registro por las causales previstas en los incisos a), b), c) y d) del Artículo 111 del presente reglamento. En tal supuesto, la solicitud de registro presentada dejará de surtir efectos legales. El pronunciamiento de la DIGESA deberá constar en resolución debidamente motivada, la misma que deberá ser notificada a las Aduanas de la República para los fines pertinentes.

La verificación de la calidad sanitaria del producto se efectúa con posterioridad a la inscripción o reinscripción en el Registro Sanitario, de conformidad con las normas correspondientes.

Artículo 108. Vigencia del Registro Sanitario

El Registro Sanitario de Alimentos y Bebidas tiene una vigencia de cinco (5) años, contados a partir de la fecha de su otorgamiento.

Podrá ser renovado previa solicitud de reinscripción presentada por el titular del registro entre los sesenta (60) y los siete (7) días útiles anteriores a la fecha de su vencimiento. El registro de los productos cuya reinscripción no es solicitada antes de los siete (7) días, caduca automáticamente al vencimiento del plazo por el cual fue concedido, la solicitud que se presente fuera de este plazo será tramitada como de nuevo Registro Sanitario.

La reinscripción en el Registro Sanitario se sujeta a las mismas condiciones, requisitos y plazos establecidos para la inscripción. La vigencia de la reinscripción, se contará a partir de la fecha del vencimiento del registro cuya renovación se solicita.

Si hubiera en el mercado existencias del producto cuyo registro se ha vencido sin que se haya solicitado su renovación, éstas deben ser retiradas del mercado por el titular del Registro, dentro del plazo de noventa (90) días calendario, vencido el cual se ordenará su decomiso y se comunicará a la población que dicho producto carece de Registro.

Artículo 109. Modificaciones al Registro Sanitario

Cualquier modificación o cambio en los datos y condiciones bajo las cuales se otorgó el Registro Sanitario a un producto o grupo de productos, debe ser comunicado por escrito a la DIGESA, por lo menos siete (7) días hábiles antes de ser efectuada, acompañando para el efecto los recaudos o información que sustente dicha modificación.

Artículo 110. Suspensión del Registro Sanitario

La DIGESA podrá suspender el Registro Sanitario del producto hasta que el titular del registro efectúe las modificaciones en la composición del producto y/o del envase, según corresponda, cuando:

- a) La Comisión del Codex Alimentarius emita información que determine que un aditivo o que los niveles de concentración en los que se le ha venido usando son dañinos para la salud.
- b) La Food and Drug Administration de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA) u otro organismo de reconocido prestigio internacional emita información que determine que el material del envase es nocivo para la salud.

Artículo 111. Cancelación del Registro Sanitario

En cualquier momento, se podrá cancelar el Registro Sanitario de un producto cuando:

- a) Se detecte cualquier adulteración o falsificación en las declaraciones, documentos o información presentados al solicitar el Registro Sanitario.
- b) Se efectúen observaciones a la documentación e información técnica presentada al solicitar el Registro Sanitario, siempre que éstas no sean subsanadas por el interesado en el plazo máximo de treinta (30) días calendario, contados desde su notificación por la DIGESA.
- c) Se incorpore al producto aditivos alimentarios prohibidos, o que estando permitidos excedan los límites máximos establecidos.
- d) Se utilice envases elaborados con materiales de uso prohibido.
- e) Se efectúen observaciones a la documentación e información técnica sustentatoria de la modificación del Registro Sanitario, siempre que éstas no sean subsanadas por el interesado en el plazo máximo de treinta (30) días calendario, contados desde su notificación por la DIGESA.

Artículo 112. *Transferencia del Registro Sanitario*

El Registro Sanitario otorgado a un producto sólo podrá ser transferido por su titular a favor de persona distinta, siempre que esta última esté debidamente constituida en el país como empresa fabricante o importadora.

Artículo 113. *Certificados de Libre Comercialización y de Uso*

La DIGESA mantendrá una lista actualizada por países de las autoridades competentes para emitir el Certificado de Libre Comercialización y el Certificado de Uso y la hará de conocimiento público periódicamente.

Se tendrá por válido el Certificado de Libre Comercialización o el Certificado de Uso emitido por Autoridad distinta a la que figura en dicho listado, siempre que cuente con la visación del consulado peruano del lugar o de la oficina que haga sus veces, acreditando que quien lo emite, es la autoridad competente con arreglo a las disposiciones vigentes del país correspondiente. Igual disposición regirá en caso que el referido listado no identifique cual es la autoridad competente para emitirlo.

Se tendrá por presentado el Certificado de Uso cuando:

- a) La DIGESA cuente con información oficial que indique que en el país fabricante o en el país exportador no se emite dicho certificado.
- b) El que solicita Registro Sanitario acredite que en el país fabricante o en el país exportador no se emite dicho certificado, presentando para el efecto un documento que así lo señale, expedido por la autoridad competente o por el consulado peruano del lugar.

Artículo 114. *Importación de alimentos y bebidas registrados*

Un alimento o bebida ya registrado, podrá ser importado y comercializado por quien no es titular del Registro Sanitario. Para tal fin, la DIGESA emitirá a favor del interesado un Certificado de Registro Sanitario de Producto Importado.

Quien importe y comercialice un producto, amparado en un Certificado de Registro Sanitario de Producto Importado, asume las mismas obligaciones y responsabilidades que el titular del Registro, respecto a la calidad sanitaria e inocuidad del producto. En este caso, el nombre o razón social, la dirección y Registro Unificado del importador deberá figurar obligatoriamente por impresión o etiquetado, en cada envase de venta al consumidor.

El Certificado de Registro Sanitario de producto importado será emitido en un plazo no mayor de siete (7) días hábiles de solicitado a la DIGESA y tendrá la misma fecha de vencimiento que la del Registro Sanitario del producto correspondiente.

El interesado debe señalar en la solicitud que presente para el efecto:

- a) Objeto de la solicitud.
- b) Número de Registro Sanitario del producto al cual solicita acogerse.
- c) Nombre o razón social, dirección y Registro Unificado del solicitante.

Asimismo, debe acompañar el comprobante de pago por derecho de certificado.

Artículo 115. *Vigencia de documentos extranjeros*

Los documentos expedidos en el extranjero deben tener una antigüedad no mayor de un (1) año, contado desde la fecha de su emisión, y estar acompañados de su respectiva traducción al español.

ANEXO N° 3

NTS N° - MINSA/DIGESA-V.01

NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO

1. FINALIDAD

La presente norma sanitaria se establece para garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos y bebidas destinados al consumo humano, siendo una actualización de la Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM que aprobó los "Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano".

2. OBJETIVO

Establecer las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano.

3. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La presente norma sanitaria es de obligatorio cumplimiento en todo el territorio nacional, para efectos de todo aspecto relacionado con la vigilancia y control de la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos.

4. BASE LEGAL Y TÉCNICA

Base legal

- ✚ Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, aprobado por Decreto Supremo No 007-98-SA.

Base Técnica

- ✚ Principios para el establecimiento y la Aplicación de Criterios Microbiológicos para los alimentos del Codex Alimentarius (CAG/GL-21, 1997).
- ✚ Microorganismo de los Alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. ICMSF. 2da. Edición, 1990.

5. POSICIONES GENERALES

5.1. DEFINICIONES OPERATIVAS

Para fines de la presente Norma Sanitaria se establecen las siguientes definiciones:

Alimentos aptos para consumo humano: Alimentos que cumplen con los criterios de calidad sanitaria e inocuidad establecidos por la norma sanitaria.

Alimento: Toda sustancia elaborada, semielaborada o en bruto, que se destina al consumo humano, incluido el chicle y cualesquiera otras sustancias que se utilicen en la elaboración, preparación o tratamiento de "alimentos", pero no incluye los cosméticos, el tabaco ni las sustancias que se utilizan únicamente como medicamentos.

Alimentos para regímenes especiales: Alimentos elaborados o preparados especialmente para satisfacer necesidades determinadas por condiciones físicas o fisiológicas particulares. La composición de esos alimentos es fundamentalmente diferente de la composición de los alimentos ordinarios de naturaleza análoga. Están incluidos los alimentos de uso infantil, destinados a Programas Sociales de Alimentación (PSA).

Alimento ácido: Todo alimento cuyo pH natural sea de 4,6 o menor.

Alimentos de baja acidez: Todo alimento, excepto las bebidas alcohólicas, en el que uno de los componentes tenga un pH mayor de 4,6 y una actividad de agua mayor de 0,85.

Alimento de baja acidez acidificado: Todo alimento que haya sido tratado para obtener un pH de equilibrio de 4,6 o menor, después del tratamiento térmico.

Alimento elaborado: Son todos aquellos preparados culinariamente, en crudo o precocidos o cocinado, de uno o varios alimentos de origen animal o vegetal, con o sin la adición de otras sustancias, las cuales deben estar debidamente autorizadas. Podrá presentarse envasado o no y dispuesto para su consumo.

Alimento en conserva: Alimento comercialmente estéril y envasado en recipientes herméticamente cerrados.

Calidad sanitaria: Es el conjunto de requisitos microbiológicos, fisicoquímicos y organolépticos que debe reunir un alimento para ser considerado apto para el consumo humano.

Criterio microbiológico: Define la aceptabilidad de un producto o un lote de un alimento basada en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, por unidad de masa, volumen, superficie o lote.

Chocolate sucedáneo: Es el producto en el que la manteca de cacao ha sido reemplazada parcial o totalmente por materias grasas de origen vegetal, debiendo poseer los demás ingredientes del chocolate. En la rotulación de estos productos deberá destacarse claramente Sabor a chocolate.

Esterilidad comercial: Condición de un alimento procesado térmicamente obtenida por:

- (i) Aplicación de calor que hace que el alimento este libre de: (a) Microorganismos capaces de reproducirse en el alimento bajo condiciones normales de almacenamiento y distribución no refrigeradas; y (b) Microorganismos viables (incluyendo esporas) de importancia para la salud pública; o
- (ii) Control de la actividad de agua y la aplicación de calor, que hace que el alimento este libre de microorganismos capaces de reproducirse en el mismo, bajo condiciones normales (no refrigeradas) de almacenamiento y distribución.

Hortaliza: Es el componente comestible de una planta que incluye, talios, raíces, tubérculos, bulbos, flores y semillas.

Inocuidad: Garantía de que los alimentos no causaran daño al consumidor cuando se fabriquen, preparen y consuman de acuerdo con el uso a que se destinan.

Jalea real: Es una secreción fluida que elaboran las abejas obreras en sus glándulas faríngeas a partir de miel, néctar y agua que recogen del exterior, mezclándola con saliva, hormonas y vitaminas en su interior. El producto se presenta como una emulsión semifluida, de color blancuzco o blanco amarillento de sabor ácido ligeramente picante, absolutamente no dulce, de olor fenólico y con reacción claramente ácida (pH: 3,5-4,5), que se utiliza para alimentar a las larvas de la colmena durante sus tres primeros días de edad y a la reina durante toda su vida.

Leche UHT (Ultra High Temperature) o UAT (Ultra Alta Temperatura) o Leche larga vida: Es el producto obtenido mediante proceso térmico en flujo continuo a una temperatura entre 135 °C a 150 °C y tiempos entre 2 a 4 segundos, aplicado a la leche cruda o termizada, de tal forma que se compruebe la destrucción eficaz de las esporas bacterianas resistentes al calor, seguido inmediatamente de enfriamiento a temperatura ambiente y envasado aséptico en recipientes estériles con barreras a la luz y al oxígeno, cerrados herméticamente, para su posterior almacenamiento, con el fin de que se asegure la esterilidad comercial sin alterar de manera esencial ni su valor nutritivo ni sus características fisicoquímicas y organolépticas, la cual puede ser comercializada a temperatura ambiente.

Leche ultrapasteurizada: Es el producto obtenido mediante proceso térmico en flujo continuo con una combinación de temperatura entre 135 °C a 150 °C y tiempos entre 2 a 4 segundos, aplicado a la leche cruda o termizada, seguido inmediatamente de enfriamiento hasta la temperatura de refrigeración y envasado en condiciones de alta higiene, en recipientes previamente higienizados y cerrados herméticamente, de tal manera que se asegure la inocuidad microbiológica del producto sin alterar de manera esencial ni su valor nutritivo, ni sus características fisicoquímicas y organolépticas, la cual deberá ser comercializada bajo condiciones de refrigeración.

Lote: Es una cantidad determinada de producto, supuestamente elaborado en condiciones esencialmente iguales cuyos envases tienen, normalmente, un código de lote que identifica la producción durante un intervalo de tiempo definido, habitualmente de una línea de producción, de un autoclave u otra unidad crítica de procesado. En el sentido estadístico, un lote se considera como un conjunto de unidades de un producto del que tiene que tomarse una muestra para determinar la aceptabilidad del mismo.

Miel: Sustancia dulce natural producida por las abejas obreras a partir del néctar o exudaciones de otras partes vivas de las flores o presentes en ella, que dichas abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, almacenan y dejan en los panales para que sazone. La miel se compone esencialmente de diferentes azúcares, predominantemente glucosa y fructosa; su color varía de casi incoloro a pardo oscuro y su consistencia puede ser fluida, viscosa o cristalizada, total o parcialmente. Su sabor y aroma reproducen generalmente los de la planta de la cual proceden.

NMP: Número más probable.

Pasteurización: Tratamiento térmico aplicado para conseguir la destrucción de microorganismos sensibles al calor; se emplean temperaturas inferiores a 100°C, suficientes para destruir las formas vegetativas de un buen número de microorganismos patógenos y saprofitos. Las bacterias esporuladas y otras denominadas termo resistentes, normalmente sobreviven a este proceso. El proceso de pasteurización no es sinónimo de esterilización, porque no destruye a todos los microorganismos. Muchos alimentos, como bebidas, se pasteurizan; la leche es el ejemplo más clásico, su caducidad es corta y requieren ser conservados en frío.

Peligro: Agente biológico, químico o físico presente en un alimento, o condición de dicho alimento, que pueden ocasionar un efecto nocivo para la salud.

Plan de muestreo: Establecimiento de criterios de aceptación que se aplican a un lote, basándose en el análisis microbiológico de un número requerido de unidades de muestra. Un plan de muestreo define la probabilidad de detección de microorganismos en un lote. Se deberá considerar que un plan de muestreo no asegura la ausencia de un determinado organismo.

Riesgo: Función de probabilidad de que se produzca un efecto adverso para la salud y de la gravedad de dicho efecto, como consecuencia de la presencia de un peligro o peligros en los alimentos.

Semiconservas: Son alimentos envasados donde el tratamiento térmico u otros tratamientos de conservación que reciben, no son suficientes para asegurar su esterilidad comercial, siendo susceptibles de una proliferación excesiva de microorganismos patógenos en el curso de su larga duración en almacén, por lo cual requieren ser mantenidos en refrigeración para prolongar su vida útil ya que la refrigeración es una barrera importante para retardar el deterioro de los alimentos y la proliferación de la mayoría de los patógenos.

Sucedáneo: Se entiende el alimento que se parece a un alimento usual en su apariencia, textura, aroma y olor, y que se destina a ser utilizado como un sustituto completo o parcial (extendedor o diluyente) del alimento al que se parece.

UFC: Unidad formadora de colonia,

5.2. Conformación de los criterios microbiológicos

Los criterios microbiológicos están conformados por;

- El grupo de alimento al que se aplica el criterio.
- Los agentes microbiológicos a controlar en los distintos grupos de alimentos.
- El plan de muestreo que ha de aplicarse al lote o lotes de alimentos.
- Los límites microbiológicos establecidos para los grupos de alimentos.

5.3. Aptitud microbiológica para el consumo humano

Los alimentos y bebidas serán considerados microbiológicamente aptos para el consumo humano cuando cumplan en toda su extensión con los criterios microbiológicos establecidos en la presente norma sanitaria para el grupo y subgrupo de alimentos al que pertenece.

5.4. Planes de muestreo

Los planes de muestreo solo se aplican a lote o lotes de alimentos y bebidas; se sustentan en el riesgo para la salud y las condiciones normales de manipulación y consumo del alimento. Los planes de muestreo se expresan en términos de planes de muestreo de dos y tres clases que dependen del grado del peligro involucrado. Un plan de muestreo de dos clases se usa cuando no se puede tolerar la presencia o ciertos niveles de un microorganismo en ninguna de las unidades de muestra. Un plan de muestreo de tres clases se usa cuando se puede tolerar cierta cantidad de microorganismos en algunas de las unidades de muestra.

Los símbolos usados en los planes de muestreo y su definición:

Categoría: grado de riesgo que representan los microorganismos en relación a las condiciones previsibles de manipulación y consumo del alimento.

"n" (minúscula): Numero de unidades de muestra seleccionadas al azar de un lote, que se analizan para satisfacer los requerimientos de un determinado plan de muestreo.

"c": Numero máximo permitido de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o numero máximo de unidades de muestra que puede contener un numero de microorganismos comprendidos entre "m" y "M" en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecte un numero de unidades de muestra mayor a "c" se rechaza el lote.

"m" (minúscula): Limite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable. En general, un valor igual o menor a "m", representa un producto aceptable y los valores superiores a "m" indican lotes aceptables ó inaceptables.

"M" (mayúscula): Los valores de recuentos microbianos superiores a "M" son inaceptables, el alimento representa un riesgo para la salud.

PLANES DE MUESTREO PARA COMBINACIONES DE DIFERENTES GRADOS DE RIESGO PARA LA SALUD Y DIVERSAS CONDICIONES DE MANIPULACIÓN (*).

Grado de importancia en relación con la utilidad y el riesgo sanitario	Condiciones esperadas de manipulación y consumo del alimento o bebida luego del muestreo.		
	Condiciones que reducen el riesgo	Condiciones que no modifican el riesgo	Condiciones que pueden aumentar el riesgo
Sin riesgo directo para la salud. Utilidad, (por ej. Vida útil y alteración)	Aumento de vida útil Categoría 1 3 clases n = 5, c=3	Sin modificación Categoría 2 3 clases N = 5, c=2	Disminución de vida útil Categoría 3 3 clases n = 5, c=1
Riesgo para la salud bajo, indirecto. (Indicadores).	Disminucion del riesgo Categoría 4 3 clases n = 5, c=3	Sin modificacion Categoría 5 3 clases n = 5, c=2	Aumento del riesgo Categoría 6 3 clases n = 5, c=1
Moderado, directo diseminación limitada.	Categoría 7 3 clases n = 5, c=2	Categoría 8 3 clases n =.5, c=1	Categoría 9 3 clases n = 10, c=1
Moderado, directo, diseminación potencialmente extensa.	Categoría 10 2 clases n = 5, c=0	Categoría 11 2 clases n = 10 c=0	Categoría 12 2 clases n = 20, c=0
Grave directo	Categoría 13 2 clases n = 15, c=0	Categoría 14 2 clases n = 30 c=0	Categoría 15 2 clases n = 60, c=0

(*) Fuente: Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF).2a ed. Pag. 68. 1999.

5.5. Excepciones en que "n" es diferente de 5

a) Número de unidades de muestra para Registro Sanitario de alimentos y bebidas.

El número de unidades de muestra de alimentos y bebidas (n) para la inscripción en el Registro Sanitario podrá ser igual a uno (n=1) y deberá ser calificada con los límites más exigentes (m) indicados en la presente disposición para ese tipo de alimento o bebida.

b) Número de unidades de muestra para la verificación del Plan HACCP

Para la verificación del Plan HACCP, el numero de unidades de muestra de los planes de muestreo podrá ser igual a uno (n=1) y deberá ser calificada con los límites mas exigentes (m) indicados en la presente disposición para ese tipo de alimento o bebida. Esto procederá, si una persona natural ó jurídica que opera o intervenga en cualquier proceso de fabricación, elaboración e industrialización de alimentos y bebidas, demuestre mediante

documentación histórica con un mínimo de 6 meses, que cuentan con procedimientos eficaces basados en los principios del sistema HACCP.

c) Numero de unidades de muestra para la vigilancia sanitaria de alimentos preparados.

Para el caso de la vigilancia sanitaria de alimentos y bebidas preparados provenientes de establecimientos de comercialización, preparación y expendio, se podrá tomar una unidad (n=1) de muestra por cada tipo de alimento preparado que deberán ser calificadas con los límites mas exigentes (m), indicados en la presente disposición.

5.6. Grupos de microorganismos

Como referencia para los criterios microbiológicos, en general los microorganismos se agrupan como:

Microorganismos indicadores de alteración; las categorías 1, 2, 3 definen los microorganismos asociados con la vida útil y alteración del producto tales como microorganismos aerobios mesófilos, bacterias heterotróficas, aerobios mesófilos esporulados, mohos, levaduras, levaduras osmófilas, bacterias ácido lácticas, microorganismos lipolíticos.

Microorganismos indicadores de higiene: en las categorías 4, 5, y 6 se encuentran los microorganismos no patógenos que suelen estar asociados a ellos, como Coliformes (que para efectos de la presente norma sanitaria se refiere a Coliformes totales), *Escherichia coli*, anaerobios sulfito reductores, Enterobacteriaceas, (a excepción de "Preparaciones en polvo o formulas para Lactantes" que se consideran en el grupo de microorganismos patógenos).

Microorganismos patógenos: son los que se hallan en las categorías 7 a la 15. Las categorías 7, 8 y 9 corresponde a microorganismos patógenos tales como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, cuya cantidad en los alimentos condiciona su peligrosidad para causar enfermedades alimentarias. A partir de la categoría 10 corresponde a microorganismos patógenos, tales como *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes*(*), (para el caso de alimentos que pueden favorecer el desarrollo de *L. monocytogenes*), *Escherichia coli* O157:H7 y *Vibrio cholerae*entre otros patógenos, cuya sola presencia en los alimentos condiciona su peligrosidad para la salud.

(*) Para el caso de alimentos que no favorecen la proliferación de *L. monocytogenes* considera $m < 100$. (Referencia, Evaluación de Riesgos de *L. monocytogenes* en alimentos listos para el consumo FAO/OMS 2004, Comité del Codex sobre Higiene de los alimentos, adoptado por la Comunidad Europea Reglamento CE 2073/2005-D.O.U.E de 22/12/05- relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios).

5.7. Métodos de ensayos

Con el fin de que los resultados puedan ser comparables y reproducibles, los métodos de ensayo utilizados en cada una de las determinaciones, deben ser métodos internacionales o nacionales normalizados, reconocidos y acreditados por el organismo nacional de acreditación o bien pueden ser métodos internacionales modificados que han sido validados y acreditados por el organismo nacional de acreditación, conforme a lo dispuesto por este.

5.8. Reportes de ensayo

Los Informes de Ensayo, Certificados de Análisis y otras formas de reporte emitidos por los laboratorios, deberán indicar el método de análisis empleado y la expresión de resultados acorde con el método debe expresarse en: UFC/g, UFC/mL, NMP/g, NMP/mL, NMP/100mL ó Ausencia ó Presencia /25 g ó mL.

6. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

6.1. Grupos de alimentos

Para los efectos de la presente disposición sanitaria, se establecen los grupos de alimentos y bebidas considerando, su origen, tecnología aplicada en su procesamiento o elaboración y grupo consumidor; entre otros; estos son:

- I. Leche y productos lácteos.
- II. Helados y mezclas para helados.
- III. Productos grasos.
- IV. Productos deshidratados: liofilizados o concentrados y mezclas.
- V. Granos de cereales, leguminosas, quenopodiáceas y derivados (harinas y otros).

- VI. Azúcares, mieles y productos similares.
- VII. Productos de confitería.
- VIII. Productos de panadería, pastelería y galletería.
- IX. Alimentos para regímenes especiales.
- X. Carnes y productos cárnicos.
- XI. Productos hidrobiológicos.
- XII. Huevos y ovoproductos.
- XIII. Especies, condimentos y salsas.
- XIV. Frutas, hortalizas, frutos secos y otros vegetales.
- XV. Alimentos preparados.
- XVI. Bebidas.
- XVII. Estimulantes y fruitivos.
- XVIII. Semiconservas.
- XIX. Conservas.

6.2. Criterios microbiológicos

Los alimentos y bebidas deben cumplir íntegramente con la totalidad de los criterios microbiológicos correspondientes a su grupo o subgrupo para ser considerados aptos para el consumo humano:

I. LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS.						
I.1 Leche cruda destinada solo al uso de la industria láctea.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por mL	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	5×10^5	10^6
Coliformes	4	3	5	3	10^2	10^3
I.2 Leche y crema de leche pasteurizada						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g ó mL	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	2×10^4	5×10^4
Coliformes (*)	5	3	5	2	1	10
(*) Para crema de leche pasteurizada, m = <3						
I.3 Leche ultra pasteurizada						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por mL	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	10^2	10^3
Coliformes	5	3	5	2	1	10
I.4 Leche y crema de leche en polvo.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	3×10^4	10^5
Coliformes	6	3	5	1	10	10^2
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia /25 g	
I.5 Leche condensada azucarada y dulces de leche (manjar, natillas, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos y levaduras osmófilas	2	3	5	2	10	10^2
I.6 Leches fermentadas y acidificadas (yogurt, leche cultivada, cuajada, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	10	10^2
Mohos	2	3	5	2	10	10^2
Levaduras	2	3	5	2	10	10^2

I.7 Postres a base de leche no acidificados listos para consumir (flanes, pudines, crema volteada, mazamorra de leche, otros)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
Mohos	2	3	5	2	10	10 ²
Levaduras	2	3	5	2	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---
I.8 Quesos no madurados (queso fresco ucayalino, otros), mantecoso, ricotta, cabana, crerna, petit suisse, mozzarella,						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	5x10 ²	10 ³
Staphylococcus aureus	7	3	5	2	10	10 ²
Escherichia coli	6	3	5	1	3	10
Listeria monocytogenes	10	2	5	0	Ausencia /25 g	-
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	
I.9 Quesos madurados (camembert, brie, roquefort, gorgonzola, cuartirolo, Cajamarca, tilsit, andino, majes, characato, sabandia, dambo, gouda, edam, paria, enmental, gruyere, cheddar, provolone, amazónico, parmesano, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	2x10 ²	10 ³
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Listeria monocytogenes	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	
I.10 Quesos procesados (fundidos: laminados, rallados, en pasta, en polvo).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	6	3	5	1	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
II. HELADOS Y MEZCLAS PARA HELADOS.						
II.1 Helados a base de leche						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ³
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25 g	---
Listeria monocytogenes	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
II.2 Postres a base de helados de leche con cobertura de maní, mermelada, frutas confitadas u otros.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ³
Coliformes	5	3	5	2	10 ²	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25 g	---
Listeria monocytogenes	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
II.3 Helados a base de agua						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ³
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ³

(*) Solo para los que contienen pulpa de fruta.

II.4 Mezclas deshidratadas para helados.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ³
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25 g	---
III. PRODUCTOS GRASOS.						
III.1 Mantequillas y margarinas.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10	10 ²
Coliformes	4	3	5	3	10	10 ²
Staphylococcus aureus	7	3	5	2	10	10 ²
IV. PRODUCTOS DESHIDRATADOS: LIOFILIZADOS O CONCENTRADOS Y MEZCLAS.						
IV.1 Sopas, caldos, cremas, salsas y puré de papas de uso instantáneo que no requieren cocción.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Escherichia coli	5	3	5	2	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Bacillus cereus	7	3	5	2	10 ²	10 ³
Clostridium perfringens (*)	8	3	5	1	10	10 ²
Salmonella sp	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
Mohos	3	3	5	1	10	10 ²
(*) Solo para productos que contengan carnes.						
IV.2 Sopas, cremas, salsas y purés de legumbres u otros deshidratados que requieren cocción.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	10 ⁴	10 ⁶
Coliformes	4	3	5	3	10	10 ²
Bacillus cereus	7	3	5	2	10 ²	10 ³
Clostridium perfringens (*)	8	3	5	1	10	10 ²
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Solo para productos que contengan carnes.						
IV.3 Mezclas en seco de uso instantáneo (refrescosgelatinas, jaleas, cremas, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Bacillus cereus (*)	7	3	5	2	10 ²	10 ³
Salmonella sp. (**)	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
Mohos	3	3	5	1	10	10 ²
(*) Solo para productos que contengan cereales.						
(**) Solo para productos que contengan leche, cacao y/o huevo.						
IV.4 Mezclas en seco que requieren cocción (pudines, flanes, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁶
Coliformes	4	3	5	3	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Bacillus cereus(*)	8	3	5	1	10 ²	10 ³
Salmonella sp. (**)	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Sólo para productos que contengan leche o cereales.						
(**) Sólo para productos que contengan leche, cacao y/o huevo.						

IV.5 Caldos concentrados en pasta (que requieren cocción)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁵
Coliformes	4	3	5	3	10	10 ²
Clostridium perfringens	7	3	5	2	10 ²	10 ³
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
V.GRANOS DE CEREALES, LEGUMINOSAS, QUENOPODIÁCEAS Y DERIVADOS (harinas y otros).						
V.1 Granos secos.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵
V.2 Harinas y sémolas.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵
Escherichia coli	5	3	5	2	10	10 ²
Bacillus cereus (*)	7	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Sólo para productos que contengan leche o cereales.						
V.3 Feculas y almidones.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Escherichia coli	5	3	5	2	10	10 ²
Bacillus cereus	7	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
V.4. Pastas y masas frescas y/o precocidas sin relleno refrigeradas o congeladas (panes, precocidos, masas para wantan, para lasaña, para fideos chinos, pre pizzas, masas crudas, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Escherichia coli	8	3	5	1	10 ²	10 ³
Bacillus cereus (*)	7	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Sólo para productos que contengan arroz y/o maíz.						
V.5. Pastas y masas frescas y/o precocidas con relleno refrigeradas o congeladas (wantan, lasaña, ravioles, canelones, pizzas, minpao, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Escherichia coli	6	3	5	1	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10 ²	10 ³
Clostridium perfringens (*)	8	3	5	1	10 ²	10 ³
Bacillus cereus(**)	7	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Salmonella sp	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Solo para productos que contengan carnes y verduras.						
(**) Solo para productos que contengan arroz y/o maíz.						
V.6 Fideos o pastas desecadas con o sin relleno (incluye fideos a base de verduras, al huevo, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ²	10 ³
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10 ²	10 ³
Clostridium perfringens (*)	8	3	5	1	10 ²	10 ³
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Solo para pastas con relleno de carne						

V.7 Productos instantáneos extruidos o expandidos proteinizados o no y hojuelas a base de granos						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	10 ⁴	10 ⁵
Mohos	2	3	5	2	10 ²	10 ³
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
Bacillus cereus	8	3	5	1	10 ²	10 ³
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
V.8 Hojuelas a base de granos (gramíneas, quenopodiáceas y leguminosas) que requieren cocción.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁶
Mohos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Coliformes	5	3	5	2	10 ²	10 ³
Bacillus cereus	8	3	5	1	10 ²	10 ⁴
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
VI. AZUCARES, MIELES Y PRODUCTOS SIMILARES						
VI.1 Azúcar refinada doméstica, blanco directo, en polvo, blanda azúcares líquidos, jarabes, dextrosa, fructuosa, otros.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	1	3	5	3	10 ²	2 x 10 ²
Mohos	2	3	5	3	<10	10
Levaduras	2	3	5	2	<50	50
VI.3 Azúcar rubia doméstica, chancaca.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	1	3	5	2	4 x 10 ²	2 x 10 ²
Enterobacteriaceas	5	3	5	2	10	10 ²
Mohos	2	3	5	2	10	20
Levaduras	2	3	5	2	10	10 ²
VI.3 Otros jarabes (de maple, de maíz, frutas, algarrobina, otros), edulcorantes						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Enterobacteriaceas (*)	5	3	5	2	<1	10
Mohos	2	3	5	2	10	10 ²
Levaduras osmófilas	2	3	5	2	10	10 ²
(*) Para los de consumo directo. Para los que requieren dilución para su análisis m =<10						
VI.4 Miel, jalea real y similares						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Anaerobios sulfito reductores	5	3	5	2	10 ²	10 ³
Mohos	2	3	5	2	10	10 ²
VI.5 Productos relacionados a la miel (polen, polimiel, propolio, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	1	3	5	3	10 ³	10 ⁴
Mohos	2	3	5	2	10	10 ²
Escherichia coli	6	3	5	1	3	10
VII. PRODUCTOS DE CONFITERÍA						
VII.1 Chocolates de leche, blanco, para taza, de cobertura con o sin relleno (bombones, tejas y chocotejas) y chocolate sucedáneo.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos(*)	2	3	5	2	10 ²	10 ³
Escherichia coli	6	3	5	1	3	10
Salmonella sp.	11	2	10 (**)	0	Ausencia/25g	---

(*) Solo en el caso de chocolates relleno.						
(**) Hacer compósito para n = 5						
VII.2 Caramelos duros (sin relleno)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ²	5 x 10 ²
Mohos	2	3	5	2	10	5 x 10
VII.3 Caramelos blandos, semiblandos y duros con relleno, goma de mascar, marshmallows						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos(*)	2	3	5	2	10 ²	10 ⁴
Mohos	2	3	5	2	5 x 10	3 x 10 ²
(*) No se aplica para marshmallows						
VII.4 Turrón blando o duro de confitería, barras de cereales.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ²	3 x 10 ³
Staphylococcus aureus(*)	8	3	5	1	10	10 ²
Bacillus cereus (**)	8	3	5	1	10 ²	10 ⁴
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Sólo para productos que contienen leche.						
(**) Sólo para productos que contienen cereales.						
VII.5 Cacao en pasta (Licor de cacao-chocolate) y torta de cacao						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
VIII. PRODUCTOS DE PANADERÍA, PASTELERÍA Y GALLETERÍA						
VIII.1 Productos de panadería y pastelería con o sin relleno y/o cobertura que no requieren refrigeración (pan, galletas y panes enriquecidos o fortificados tostadas, bizcochos, paneton, queques, galletas, obleas, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ²	10 ³
Escherichia coli (*)	6	3	5	1	3	20
Staphylococcus aureus(*)	8	3	5	1	10	10 ²
Clostridium perfringens (**)	8	3	5	1	10	10 ²
Salmonella sp. (*)	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Para productos con relleno.						
(**) Adicionalmente para productos con rellenos de carne y/o vegetales.						
VIII.2 Productos de pastelería dulce y salado que requieren refrigeración (pasteles, tortas, empanadas otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	3	3	5	1	10 ²	10 ³
Escherichia coli	6	3	5	1	10	20
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Clostridium perfringens(*)	8	3	5	1	10	10 ²
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Para aquellos productos con rellenos de carne y/o vegetales.						
IX. ALIMENTOS PARA REGÍMENES ESPECIALES						
IX.1 Preparaciones en polvo para lactantes (formulas infantiles y sucedáneos de la leche materna).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Enterobacteriaceas	8	3	5	1	<10	10 ²
Staphylococcus aureus(*)	8	3	5	1	<3	10
Bacillus cereus	8	3	5	1	<10 ²	10 ³
Salmonella sp.	12	2	60 (*)	0	Ausencia/25g	---
(*) Hacer compósito para analizar n=5						

IX.2 Producto cocido de reconstitución instantánea destinado a niños entre 6 a 36 meses (papilla y						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	10 ⁴	10 ⁵
Mohos	5	3	5	2	10 ²	10 ⁴
Lavaduras	2	3	5	2	10 ²	10 ⁴
Coliformes	6	3	5	1	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Bacillus cereus	9	3	10	1	10 ²	10 ⁴
Salmonella sp.	15	2	60 (*)	0	Ausencia/25g	---
(*) Hacer compósito para analizar n=5						
IX.3 Productos cocidos de reconstitución instantánea, como enriquecidos lácteos, sustitutos lácteos, mezclas fortificadas, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	10 ⁴	10 ⁵
Mohos	6	3	5	1	10 ³	10 ⁴
Levaduras	3	3	5	1	10 ³	10 ⁴
Coliformes	6	3	5	1	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Bacillus cereus	8	3	5	1	10 ²	10 ⁴
Salmonella sp.	12	2	20 (*)	0	Ausencia/25g	---
(*) Hacer compósito para analizar n=5						
IX.4 Productos crudos deshidratados y precocidos que requieren cocción, como hojuelas, harinas, otros.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵
Mohos	5	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Levaduras	5	3	5	2	10 ³	10 ⁴
Coliformes	5	3	5	2	10 ²	10 ³
Bacillus cereus	8	3	5	1	10 ²	10 ⁴
Salmonella sp.	10	2	20 (*)	0	Ausencia/25g	---
IX.5 Producto cocido de consumo directo, como extruidos, expandidos, hojuela instantánea, otros.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	10 ⁴	10 ⁵
Mohos	5	3	5	2	10 ²	10 ³
Levaduras	5	3	5	2	10 ²	10 ³
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
Bacillus cereus	8	3	5	1	10 ²	10 ⁴
Salmonella sp.	10	2	20 (*)	0	Ausencia/25g	---
IX.6 Productos dietéticos que requieren reconstitución para su consumo						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ³	5 x 10 ⁴
Mohos(*)	6	3	5	2	10	3 x 10 ²
Coliformes	6	3	5	1	<3	10
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	<3	10
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Para productos que contengan cereales.						
IX.7 Productos dietéticos que requieren cocción antes de su consumo						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁶
Mohos(*)	2	3	5	2	10 ²	10 ³
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	<3	10
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Para productos que contengan cereales.						

IX.8 Productos dietéticos listos para su consumo no comprendido en los anteriores.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10^3	10^4
Mohos(*)	2	3	5	2	10	3×10^2
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	<3	10
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Para productos que contengan cereales.						
IX.9 Productos tratados térmicamente esterilizados y envasados en recipientes herméticamente cerrados.						
Deben estar exentos de microorganismos capaces de proliferar en el producto en condiciones normales no refrigeradas de almacenamiento y distribución. Procede aplicar lo establecido señalado para el Grupo XIX. Conservas.						
X. CARNES Y PRODUCTOS CÁRNICOS						
X.1 Carne cruda ave refrigerada y congelada (pollo, gallina, pavo, pato, avestruz, otras).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°)	2	3	5	2	10^3	10^7
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
X.2 Carne de ave precocida congelada, que requiere tratamiento térmico antes de su consumo						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10^3	10^4
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
X.3 Carne cruda de bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, camélidos, equinos, otros; refrigerada o congelada.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°)	2	3	5	2	10^3	10^7
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
X.4 Vísceras de aves, bovinos, ovinos, caprinos; refrigeradas y congeladas						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°)	2	3	5	2	10^3	10^7
Escherichia coli (*)	5	3	5	2	50	5×10^2
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
X.5 Apéndices de aves, bovinos, porcinos, caprinos, ovinos, refrigerados y congelados (cabeza, lengua, patas y cola).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°)	1	3	5	3	5×10^5	10^7
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
X.6 Carnes crudas picadas y molidas						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°)	2	3	5	2	10^6	10^7
Escherichia coli	5	3	5	2	50	5×10^2
Staphylococcus aureus	7	3	5	2	10^2	10^3
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
Escherichia coli O157:H7	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
X.7 Carnes procesadas refrigeradas o congeladas (hamburguesas, milanesas, croquetas y otros empanizados o aderezados.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°)	2	3	5	2	10^6	10^7
Escherichia coli	6	3	5	1	50	5×10^2
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10^2	10^3
Clostridium perfringens (*)	7	3	5	2	10	10^2

Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
Escherichia coli O157:H7	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Solo para productos con embalaje, película impermeable o atmosfera modificada o al vacio en lugar de						
X.8 Carnes secas, seco-saladas (Charqui, chalona, cecina).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10 ²	10 ³
Clostridium perfringens	8	3	5	2	10 ²	10 ³
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
X.9 Embutidos crudos (chorizos, salchicha tipo huacho, otros) y piezas cárnicas crudas curadas (jamón serrano, jamón crudo, panceta, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°)	1	3	5	3	10 ⁶	10 ⁷
Escherichia coli	6	3	5	1	50	5 x 10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10 ²	10 ³
Clostridium perfringens	8	3	5	2	10 ²	10 ³
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
X.10 Embutidos crudos maduros (salami, salchichón, otros)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Clostridium perfringens	8	3	5	1	10 ²	10 ³
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
X.11 Embutidos con tratamiento térmico (curados: jamón ingles, tocino, costillas, chuletas, otros; escaldados: hot dog, salchichas y fiambres: jamonada, jamón del país, mortadela, pastel de jamón, pastel de carne, longaniza, otros; cocidos: queso de chanco, morcilla, relleno, chicharrón de prensa, pate, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°)	3	3	5	1	5 x 10 ⁴	5 x 10 ⁵
Escherichia coli	6	3	5	1	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Clostridium perfringens	8	3	5	1	10	10 ²
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
Listeria monocytogenes	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
XI. PRODUCTOS HIDROBIOLÓGICOS						
XI.1 Productos hidrobiológicos crudos (frescos, refrigerados, congelados, salpessos o ahumados en frio).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°)	2	3	5	2	5 x 10 ⁵	10 ⁶
Escherichia coli	4	3	5	3	10	10 ²
Staphylococcus aureus	7	3	5	2	10 ²	10 ³
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
Vibrio cholerae (*)	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
Vibrio parahaemolyticus	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Para productos microbiológicos crudos, frescos, refrigerados y congelados.						
XI.2 Producto hidrobiológico precocido y cocido (congelados o refrigerados), de consumo directo (producto final)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°)	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵
Escherichia coli	5	3	5	2	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10 ²	10 ³
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
Vibrio parahaemolyticus	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Para productos microbiológicos crudos, frescos, refrigerados y congelados.						

XI.3 Moluscos y crustáceos crudos (frescos, refrigerados o congelados)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°)	1	3	5	3	5×10^5	10^5
Escherichia coli	6	2	5	0	230/100 g (*)	---
Staphylococcus aureus	7	3	5	2	10^2	10^3
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
Vibrio parahaemolyticus	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Se debe considerar que el resultado esta dado en NMP/100 g de musculo y liquido intervalvar y se trabaja						
(**) Pelados y descalzos						
XI.4 Moluscos y crustáceos precocidos y cocidos (refrigerados o congelados)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (30°) (*)	2	3	5	3	10^4	10^5
Escherichia coli	6	2	5	0	1	10
Staphylococcus aureus	7	3	5	2	3×10^2	10^3
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Productos desconchados excepto carne de cangrejo m = 5×10^5 , carne de cangrejo m = 10^5 M = 10^5						
XI.5 Productos hidrobiológicos ahumados en caliente.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	10^4	10^5
Enterobacteriaceas	2	2	5	2	10^2	10^3
Staphylococcus aureus	1	3	5	1	10	10^2
Anaerobios sulfito reductoresc	5	3	5	2	10^3	10^4
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Solo para productos empacados al vacio						
XI.6 Productos hidrobiológicos secos, seco-salados y salado.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	1	3	5	3	10^4	10^5
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
Enterobacteriaceas	5	3	5	2	10^2	10^3
Anaerobios sulfito reductores	5	3	5	2	10^3	10^4
XI.7 Productos hidrobiológicos empanizados crudos congelados						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	1	3	5	3	5×10^5	10^6
Escherichia coli	4	3	5	3	10	10^2
Staphylococcus aureus	7	3	5	2	10^2	10^3
XI.8 Productos hidrobiológicos empanizados precocidos y cocidos congelados						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10^4	10^5
Escherichia coli	5	3	5	2	10	10^2
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10^2	10^3
XI.8 Productos hidrobiológicos deshidratados (concentrados proteicos y otros de consumo humano.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10^2	10^3
Levaduras	2	3	5	2	10^2	10^3
Enterobacteriaceas	5	3	5	2	10	10^2
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
XII HUEVOS Y OVOPRODUCTOS						
XII.1 Huevos con cascara						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos (*)	2	3	5	2	10	10^2
Salmonella sp. (*)	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Determinación en el contenido del huevo.						

XII.2 Huevo (clara y/o yema) y ovo productos pasteurizados, líquidos, congelado y/o deshidratado						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	5×10^4	10^6
Mohos(*)	2	3	5	2	10	10^2
Coliformes	5	3	5	2	10	10^2
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Sólo para productos deshidratados.						
XIII. ESPECIAS, CONDIMENTOS Y SALSAS.						
XIII.1 Mayonesa y otras salsas a base de huevos.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10^4	5×10^4
Levaduras	2	3	5	2	10	10^2
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10^2
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
XIII.2 Salsas (de tomate, picantes, de tamarindo, de mostaza) y aderezos industrializados						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10^2	10^3
Levaduras	2	3	5	2	10^2	10^3
Coliformes	5	3	5	2	10^2	10^3
XIII.3 Productos a base de soja fermentada: soja fermentada, cuajada (queso de soja), pasta, salsa sillao,						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10^3	10^4
Coliformes	5	3	5	2	10^2	10^3
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
XIII.4 Especies y condimentos deshidratados.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10^5	10^6
Mohos	2	3	5	2	10^3	10^4
Coliformes	5	3	5	2	10^2	10^3
Escherichia coli (*)	5	3	5	2	10	10^2
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Sólo para los productos de consumo directo.						
XIV. FRUTAS, HORTALIZAS, FRUTOS SECOS Y OTROS VEGETALES						
XIV.1 Frutas y hortalizas frescas (sin ningún tratamiento).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Escherichia coli	5	3	5	2	10^2	10^3
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
XIV.2 Frutas y hortalizas frescas semiprocesadas (lavados, desinfectadas, peladas, cortadas y/o precocidas) refrigeradas y/o congeladas.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	1	3	5	3	10^4	10^6
Escherichia coli	5	3	5	2	10	10^2
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
Listeria monocytogenes (*)	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Sólo para frutas y hortalizas de tierra (a excepción de las precocidas)						
XIV.3 Frutas y hortalizas desecadas, deshidratadas o liofilizadas						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10^2	10^3
Levaduras	2	3	5	2	10^2	10^3
Escherichia coli	5	3	5	2	10	5×10^2
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---

XIV.4 Frutas y hortalizas en vinagre, aceite o salmuera o fermentadas.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Levaduras	3	3	5	1	10 ³	10 ⁴
XIV.5 Frutos secos (dátiles, tamarindo, otros) y semillas (castañas, maní, pecanas, nuez, almendras otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	3	3	5	1	10 ²	10 ³
Levaduras	3	3	5	1	10 ²	10 ³
Escherichia coli	5	3	5	2	10	10 ²
XIV.6 Mermelada, jaleas y similares						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	3	3	5	1	10 ²	10 ³
Levaduras	3	3	5	1	10 ²	10 ³
XV. ALIMENTOS ELABORADOS						
XV.1 Alimentos preparados sin tratamiento térmico (ensaladas crudas, mayonesas, salsa de papa)						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos(*)	2	3	5	2	10 ⁵	10 ⁶
Coliformes	5	3	5	2	10 ²	10 ³
Staphylococcus aureus	7	3	5	2	10	10 ²
Escherichia coli	5	3	5	2	10	10 ²
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) No procede para el caso de yogurt de fabricación casera.						
XV.2 Alimentos preparados con tratamiento térmico (ensaladas cocinas, guisos, arroces, postres cocidos, arroz con leche, mazamorra, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Escherichia coli	6	3	5	1	<3	10 ²
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
XVI. BEBIDAS						
XVI.1 Bebidas carbonatadas						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos(*)	2	3	5	2	10	50
Mohos	2	3	5	2	5	10
Levaduras	2	3	5	2	10	30
(*) Para aquellas bebidas con menos de 3 atmosferas de CO ₂ . En caso de no poder determinarse se realizara el						
XVI.2 Bebidas no carbonatadas						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10	10 ²
Mohos	2	3	5	2	1	10
Levaduras	2	3	5	2	1	10
Coliformes	5	2	5	0	<3	---
XVI.3 Aguas envasadas carbonadas (*) y no carbonatadas						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Bacterias heterotróficas	2	3	5	2	10	100
Coliformes	5	2	5	0	<1,1/100 mL	---
Pseudomonas aeruginosa	10	2	5	0	Ausencia/100	---
(*) Los análisis se efectuaran solo para el caso de aquellas con pH>3,5						

XVI.4 Agua y hielo para consumo humano						
Agente microbiano	Categoría		Clase			
Bacterias Coliformes termotolerantes o Escherichia	UFC/100 mL a 44,5 °C		3(*)			
Bacterias heterotróficos	UFC/mL a 35 °C		2			
Huevos de helmintos	N°/100		2			
(*) En caso de analizar por el método de NMP= 2,2/100 mL						
XVII. ESTIMULANTES Y FRUITIVOS						
XVI.1 Café (*) y sucedáneos de café						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					M	M
Mohos	2	3	5	2	5	500
Bacillus cereus (**)	2	3	5	2	10	0 (*)
(*) No incluye el café verde (estado natural).						
(**) Para sucedáneos de café.						
XVI.1 Café (*) y sucedáneos de café						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					M	M
Mohos	3	3	5	1	5	10 ³
Enterobacteriaceas	5	3	5	2	10	10 ³
XVIII. SEMICONSERVAS						
XVIII.1 Semiconservas de pH>4,6						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					M	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	10 ²	10 ³
Mohos(*)	2	3	5	2	10 ²	10 ³
Levaduras(*)	2	3	5	2	10	10 ²
Enterobacteriaceas	5	3	5	2	10	10 ²
Staphylococcus aureus(**)	8	3	5	1	10	10 ²
Clostridium perfringens	8	3	5	1	10	10 ²
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	---
(*) Solo para semiconservas de origen vegetal.						
(**) Solo para semiconservas de origen animal.						
XVIII.2 Semiconservas de pH>4,6						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					M	M
Bacterias ácido lácticas	2	3	5	2	10 ²	10 ³
Mohos	2	3	5	2	10 ²	10 ³
Levaduras	2	3	5	2	10	10 ²
XIX. CONSERVAS						
XIX.1 Alimentos de baja acidez, de pH > 4.6 procesados térmicamente y empacados en envases sellados herméticamente (de origen, leche UHT, leche evaporada; algunos vegetales, guisados, sopas).						
Análisis	Plan de muestreo		Aceptación	Rechazo		
	n	c				
Prueba de esterilidad comercial(*)	5	0	Estéril comercialmente	No estéril		
(*) De acuerdo con Métodos Normalizados o métodos descritos por organizaciones con credibilidad internacional tales como la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC). O Asociación Americana de Salud Pública (APHA) sobre Prueba de Esterilidad Comercial, considerando las temperaturas, tiempos de incubación e indicadores microbiológicos del mencionado método, los cuales deben especificarse en el Informe de Ensayo.						
Nota 1: La prueba de esterilidad comercial se realiza en envases que no presenten ningún defecto visual. Si luego de la incubación el producto presenta alguna alteración en el olor, color, apariencia, pH, el producto se considerará "No estéril Comercialmente".						
Nota 2: Si tras las inspección sanitaria resulta necesario tomar muestras de unidades defectuosas para determinar las causas, se procederá con el Método de análisis microbiológico para determinar las causas microbiológicas del deterioro según métodos establecidos en el Codex Alimentarius, Manual de Bacteriología Analítica BAM de la Administración de Alimentos y Drogas FDA o Asociación Americana de Salud Publica APHA.						

XIX.2 Alimentos ácidos (frutas y hortalizas en conserva, compotas) y alimentos de baja acidez acidificados (alcachofas, frijoles, coles, coliflores, pepinos) de pH <4.6, procesados térmicamente y en envases sellados herméticamente.				
Análisis	Plan de muestreo		Aceptación	Rechazo
	n	c		
Prueba de esterilidad comercial(*)	5	0	Estéril comercialmente	No estéril comercialmente
(*) De acuerdo con Métodos Normalizados o métodos descritos por organizaciones con credibilidad internacional tales como la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC). O Asociación Americana de Salud Pública (APHA) sobre Prueba de Esterilidad Comercial, considerando las temperaturas, tiempos de incubación e indicadores microbiológicos del mencionado método, los cuales deben especificarse en el Informe de Ensayo.				
Nota 1: La prueba de esterilidad comercial se realiza en envases que no presenten ningún defecto visual. Si luego de la incubación el producto presenta alguna alteración en el olor, color, apariencia, pH, el producto se considerará “No estéril Comercialmente”.				
Nota 2: Si tras la inspección sanitaria resulta necesario tomar muestras de unidades defectuosas para determinar las causas, se procederá con el Método de análisis microbiológico para determinar las causas microbiológicas del deterioro según métodos establecidos en el Codex Alimentarius, Manual de Bacteriología Analítica BAM de la Administración de Alimentos y Drogas FDA o Asociación Americana de Salud Pública APHA.				

7. RESPONSABILIDADES

A nivel nacional la autoridad sanitaria responsable de vigilar el cumplimiento de la presente norma es el Ministerio de Salud a través de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) y por delegación, las Direcciones de Salud (DISAS); a nivel regional, las Direcciones Regionales de Salud (DIRESA) y a nivel local las Municipalidades.

8. DISPOSICIONES FINALES

Primera: Queda derogada la norma sobre "Criterios Microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano", aprobado por Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM, toda vez que la presente Norma Sanitaria la actualiza y la reemplaza.

Segunda: La Autoridad Sanitaria del nivel nacional, regional y local supervisará el cumplimiento de la aplicación de la presente norma sanitaria en resguardo de la salud de la población.

Tercera: La Autoridad Sanitaria podrá realizar y solicitar muestreos y análisis adicionales con el fin de detectar y/o cuantificar otros microorganismos, sus toxinas o metabolitos, a efectos de verificar procesos, de evaluar riesgos, con fines epidemiológicos ante brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), de alertas sanitarias, de rastreabilidad, por denuncias y operativos, entre otras, necesarias para el resguardo de la salud de la población.

En caso ETA, especialmente en la investigación de la etiología de toxi-infecciones, la autoridad sanitaria en inocuidad de alimentos debe procurar obtener todos los restos de alimentos sospechosos y los análisis microbiológicos a realizar deben estar de acuerdo a los antecedentes clínicos y epidemiológicos del brote.

ANEXO N° 4

MEDIOS DE CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS

AGAR SOYA TRIPTICASA

Fundamento:

Es un medio sólido para usos generales, utilizado en el aislamiento de una serie de microorganismos tanto Gram positivos como Gram negativos. El contenido proteico (las dos peptonas) permite el fácil desarrollo de aerobios comunes, bacterias facultativas, estreptococos, neumococos, brucellas, etc.

Composición:

Tripticasa (peptona de caseína)	
Obtenida por digestión pancreática	15.0 g
Fitona (peptona de soya)	5.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Agar-agar	15.0 g
Agua destilada csp	1000.0 ml

Preparación:

Se suspenden los ingredientes en 1000ml de agua destilada, se mezclan bien. Se calientan con agitación fuerte y hiere durante un minuto. Luego de la dilución se enfría a 45°C y se controla el pH a 7.2 autoclavar a 115°C por 15 minutos. Repartir en placas Petri estériles, 20ml por placa.

Procedimiento:

Sobre la superficie del agar se siembra la muestra por cualquiera de los métodos anteriores incubar a 37°C por 24 horas.

AGAR MAC CONKEY

Fundamento:

La presencia de las sales biliares se encuentran en menor concentración que en otros medios, para no inhibir demasiado y servir de enriquecedor en el crecimiento de enterobacterias; por su parte el cristal violeta inhiben el crecimiento de las bacterias Gram positivas en especial estafilococos y enterococos. La lactosa presente y el indicador rojo neutro permiten diferenciar los gérmenes fermentadores de azúcar de aquellos que no lo hacen. Las peptonas que están en el medio son la base nutricional del mismo. El cloruro de sodio hace que se mantenga el equilibrio osmótico.

Composición:

Peptona de caseína	7.0 g
Lactosa	10.0 g
Peptona de tejido animal	3.0
Sales biliares	1.5 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Rojo neutro	0.03 g
Cristal violeta	0.001
Agar-Agar	12.5 g
Agua destilada csp	1000.0 ml

Preparación:

Disolver los ingredientes en B.M. ajustar el pH a 7.0 autoclavar 15 minutos a 121°C. Repartir en placas Petri, 20ml por placa.

Procedimiento:

Sembrar de acuerdo a lo descrito, dejar incubando por 24 horas a 37°C.

Interpretación:

Las bacterias Gram (+) son inhibidas con excepción de los enterococos que crecen dando colonias pequeñas translúcidas y ligeramente rosadas. El grupo de los Gram (-), dan colonias de acuerdo con el comportamiento de las bacterias frente al disacárido lactosa, es así que las lactosa positivos dan colonias rojizas. La bacteria degrada la lactosa y produce ácidos virando al indicador del medio (rojo neutro) a un color rojizo. Escherichiacoli da colonias rojizas con un precipitado de ácidos biliares. Klebsiella desarrolla colonias mucosas presentando en la parte central un color amarillento. Proteus y otras bacterias no fermentadoras de lactosa forman colonias incoloras, pero a medida que transcurren las horas tienen a tomar un color verde azulado debido a la producción de pigmento. Otras bacterias no fermentadoras diferentes a enterobacteria también pueden crecer en este medio, las colonias pueden ser de un tono ligeramente rosado, es el caso de la Mima polimorfa, Alcalígenes, etc.

AGAR SALMONELLA- SHUIGUELLA

Fundamento.-

Es un medio de cultivo selectivo y diferencial.

La selectividad, esta dada por las sales biliares y el verde brillante, que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas, de la mayoría de los coliformes y el desarrollo invasor del Proteus spp.

Es diferencial debido a la fermentación de la lactosa, y a la formación de ácido sulfhídrico a partir del tiosulfato de sodio.

Los pocos microorganismos fermentadores de lactosa capaces de desarrollar, acidifican el medio haciendo virar al rojo el indicador de pH, obteniéndose colonias rosadas o rojas sobre un fondo rojizo.

Salmonella, Shigella y otros microorganismos no fermentadores de lactosa, crecen bien en el medio de cultivo, y producen colonias transparentes. La producción de ácido sulfhídrico se evidencia como colonias con centro negro debido a la formación de sulfuro de hierro.

Para aumentar la selectividad, se recomienda incubar previamente la muestra en Selenito caldo.

Composición:

Extracto de carne	5.0 g
Lactosa	10.0 g
Peptona	5.0
Sales biliares	8.5 g
Citrato de sodio	8.5 g
Tiosulfato de sodio	8.5 g
Citrato férrico	1.0 g
Agar	12.5 g
Rojo neutro	0.025 g
Verde brillante	0.033 g
Agua destilada csp	1000.0 ml

Preparación:

Se disuelven 59.058 g en 1 litro de agua destilada. Se calienta hasta disolución completa.

Reacciones e interacciones:

Cualquier colonia fermentadora de lactosa es coloreada de rojo por el rojo neutro.

El crecimiento de especies de *Salmonella* no está inhibido y las colonias aparecen incoloras con un centro negro debido a la producción de sulfuro de hidrógeno. Las especies de *Shigella* muestran una inhibición variable y colonias incoloras sin ennegrecimientos.

AGAR SABORAUD**Fundamento:**

Es un medio recomendado para el cultivo de hongos, particularmente aquellos asociados a infecciones dermatológicas. El contenido de glucosa y el pH facilitan el rápido desarrollo de los hongos y levaduras presentes en la muestra.

Composición:

Peptona	10.0 g
Dextrosa	40.0 g
Agar-agar	16.0 g
Agua destilada csp	1000.0 ml

Preparación:

Disolver los ingredientes, regular el pH a 5,6 autoclavar por 15 minutos a 121 °C. Repartir en placas 20 ml por placa Petri.

Procedimiento:

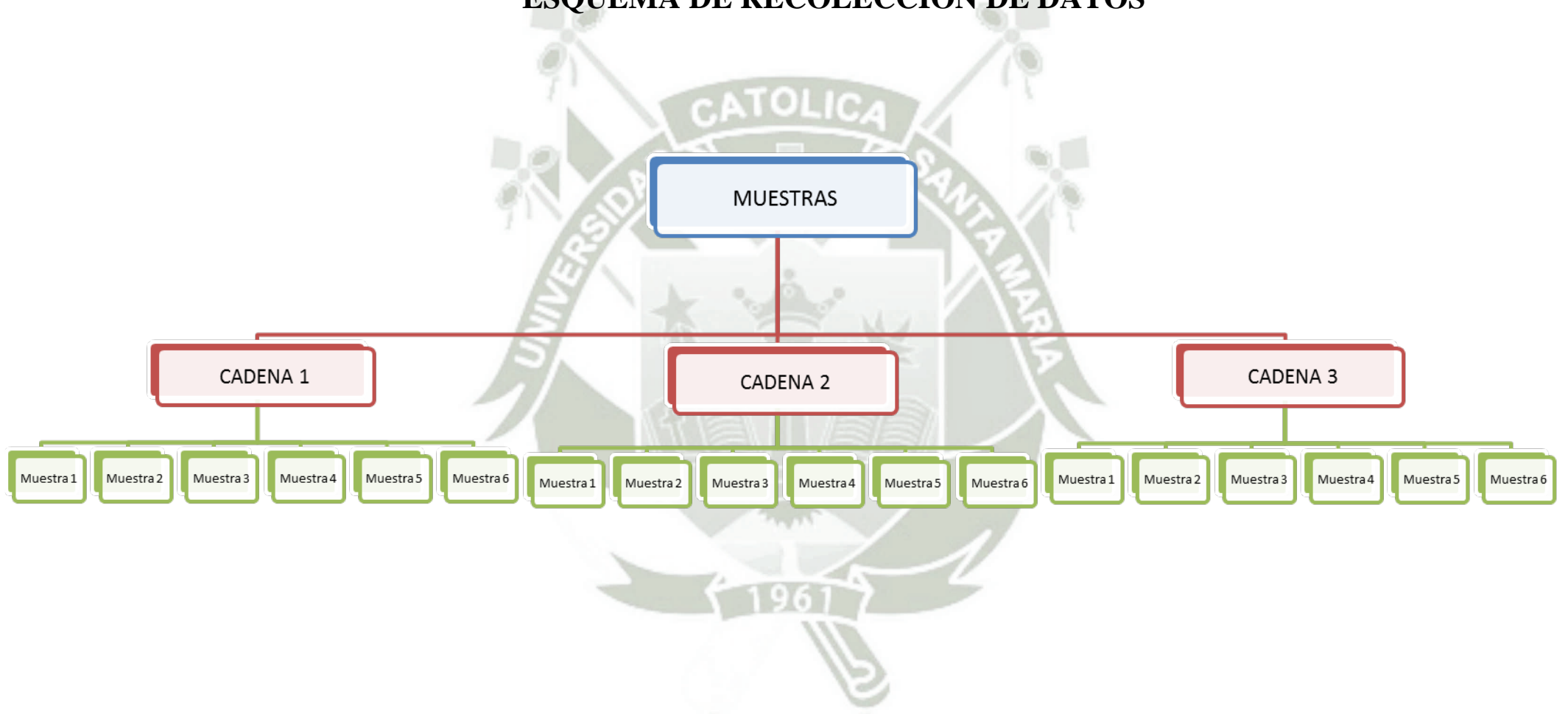
Sembrar según el método descrito para la muestra.

Interpretación:

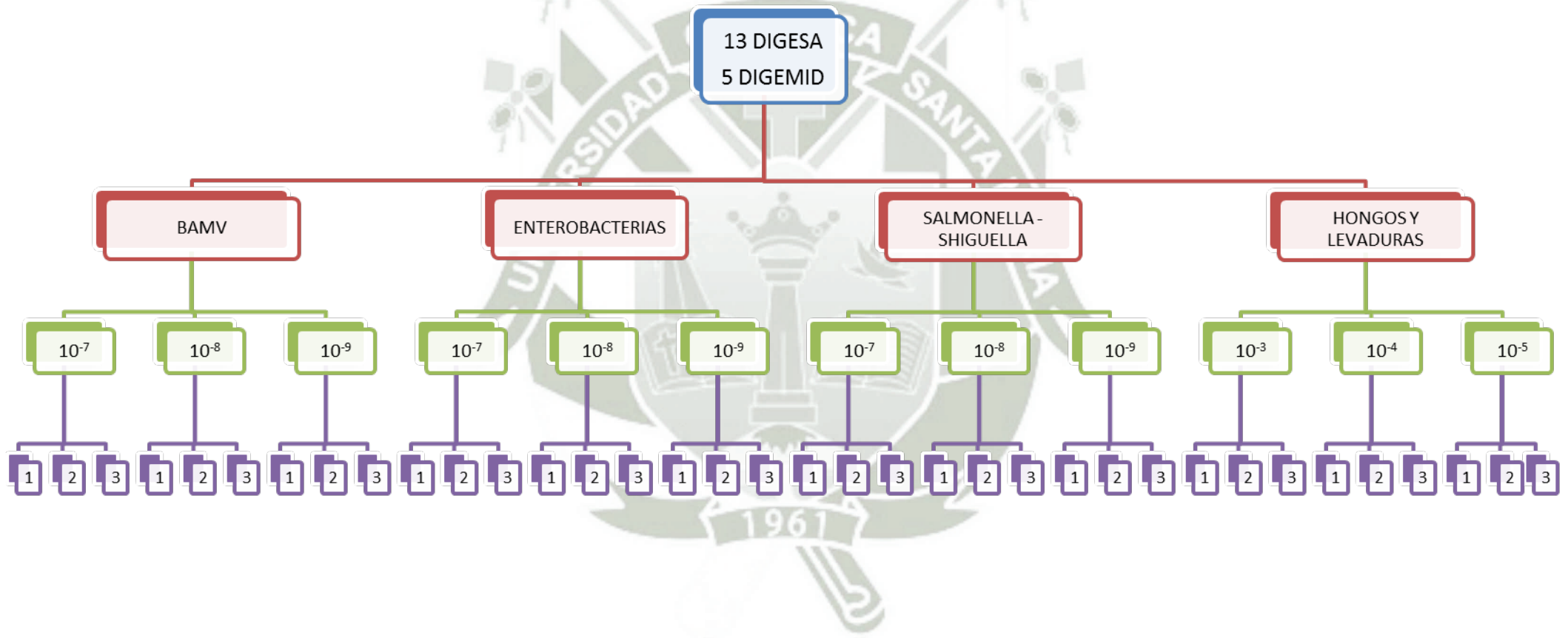
A la temperatura ambiente, las colonias de *Candida albicans*, adquieren un tamaño regular y son blanquecinas.

ANEXO N° 5

ESQUEMA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



ESQUEMA DE SEMBRADO POR CADA MUESTRA



ANEXO N° 6

GALERÍA DE FOTOS

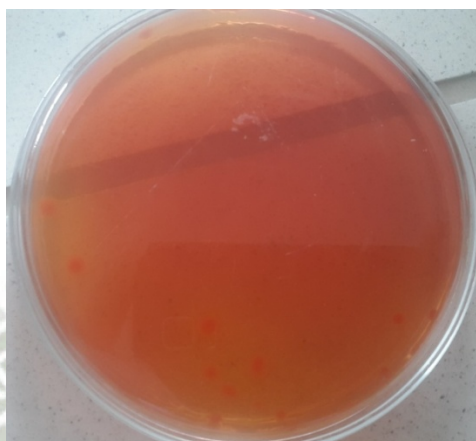


Foto No 1.- Muestra de Chancapiedra en medio Agar Mac Conkey con Registro Sanitario DIGESA se observó crecimiento de colonias en dilución 10^{-7}

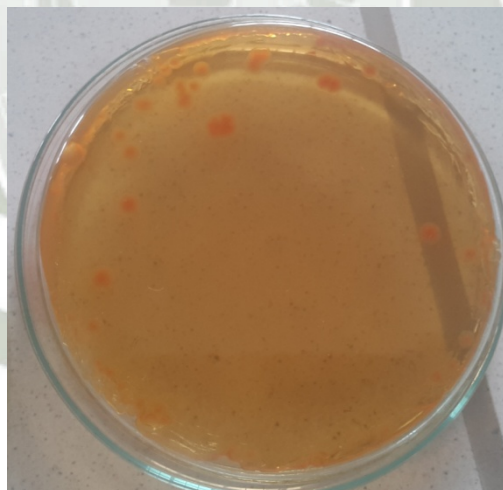


Foto No 2.- Muestra de Chancapiedra en medio Agar Soya Tripticasa con Registro Sanitario DIGESA. se observó crecimiento de colonias en dilución 10^{-7}

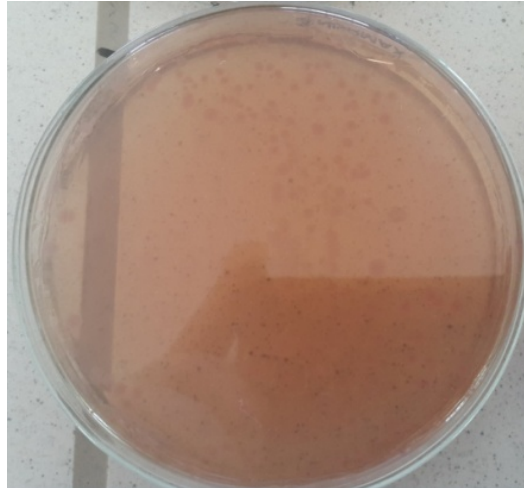


Foto No 3.- Muestra de alcachofa en medio Agar Salmonella-Shiguella con Registro Sanitario DIGESA se observó crecimiento de colonias en dilución 10^{-7}

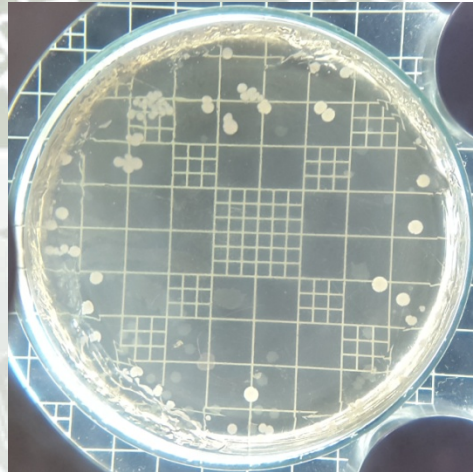


Foto No 4.- Muestra de achiote en medio Agar Saboroud con Registro Sanitario DIGEMID se observó crecimiento de colonias en dilución 10^{-7}

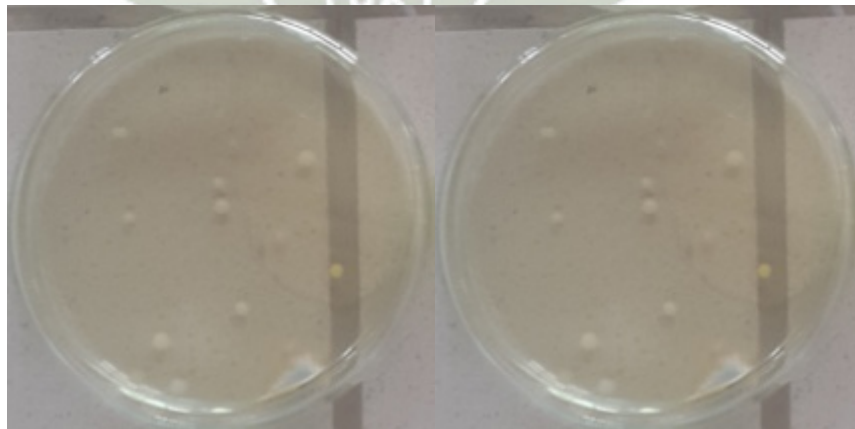


Foto No 5.- Muestra de achiote en medio Agar Saboroud con Registro Sanitario DIGESA se observó crecimiento de colonias en dilución 10^{-7}