

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias

Escuela Profesional de Biología - Microbiología

“Calidad microbiológica de productos naturales
expendidos en casas naturistas de
la ciudad de Tacna”

TESIS

Presentada por:

Bach. Zulma Rosalia Calderón Carazas

Para optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO

TACNA - PERÚ

2017

Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna

Facultad de ciencias

Escuela Profesional de Biología – Microbiología

TESIS N° 296

TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO – MICROBIÓLOGO

El Secretario Académico Administrativo de la Facultad de Ciencias, certifica que por Resolución de Facultad N° 8716-2017-FACI-UN/JBG, se designó como jurado calificador para la sustentación de tesis: **“Calidad microbiológica de productos naturales expendidos en casas naturistas de la ciudad de Tacna en el año 2017”**, conformado por:

Presidente : Dr. Daladier Miguel Castillo Cotrina
Secretaria : M.Sc. Ángela Choque Miranda
Miembro : Dr. César Cevallos Columbus

Para examinar y calificar la sustentación del informe de tesis en acto público, en el auditorio de la Facultad de Ciencias de la UNJBG, el día 19 de enero de 2017 a las 10:00 horas; presentado por la **Bach. Zulma Rosalía CALDERÓN CARAZAS, de la Escuela Profesional de Biología – Microbiología**, para optar el título de Biólogo – Microbiólogo.

El jurado calificador en forma secreta e individual se pronunció acerca del calificativo sobre el informe expuesto y procedió a emitir el siguiente veredicto: APROBADO por UNANIMIDAD y con el calificativo de BUENO con nota 15 (QUINCE).

Para ratificar lo detallado firman:



Dr. Daladier Miguel Castillo Cotrina

Presidente



M.Sc. Ángela Choque Miranda

Secretaria



Dr. César Cevallos Columbus

Miembro

DEDICATORIA

A mis maestros quienes nunca desistieron al enseñarme, depositando su esperanza en mí.

A mi querida familia que fueron fuente de inspiración.

AGRADECIMIENTOS

A dios por bendecirme y permitirme alcanzar mis metas y porque hizo realidad este sueño anhelado

A mis Jefes Oficiales y Sub Oficiales de la PNP por las facilidades y permisos concedidos para continuar con mis estudios universitarios y ser una profesional.

A mis profesores universitarios por la formación que me brindaron, y en especial a mi asesor de Tesis de Grado, Dr. César Julio CÁCEDA QUIRÓZ por su visión crítica, por su rectitud como profesional y por sus consejos que forman como profesional competente y con calidad humana.

Y por último a mi familia y a las personas que han formado parte de mi vida profesional a los que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida.

ÍNDICE

Dedicatoria	i
Agradecimiento	ii
Índice	iii
Índice de figuras	vi
Índice de cuadros	vii
Índice de cuadros	viii
Resumen	ix
Abstract	x
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Problema de investigación	5
1.2 Justificación del problema	5
1.3 Importancia de la investigación	8
1.4 Hipótesis	9
1.5 Objetivos	9
1.5.1 Objetivo general	9
1.5.2 Objetivos específicos	9

1.6	Antecedentes	10
1.7	Marco teórico	13
1.7.1	Medicina tradicional	13
1.7.2	Recursos terapéuticos naturales	14
a.	Recurso natural de uso en la salud	15
b.	Producto natural de uso en salud	15
1.7.3	Control de calidad	16
1.7.4	Microorganismos contaminantes	18
1.7.5	Fuentes de contaminación	24
a.	Materia prima	25
b.	Proceso de producción	26
c.	Ambiente de trabajo	29
d.	Envases y almacenamiento	30
II.	MATERIALES Y MÉTODOS	32
2.1	Materiales de vidrio, plástico y otros	32
2.2	Equipos	33
2.3	Medios de cultivo y reactivos	33
2.4	Diseño experimental de la investigación	35
2.5	Variables e indicadores de la investigación	35

2.5.1 Variable independiente	35
2.5.2. Variable dependiente	36
2.6 Área de estudio	36
2.7 Población y muestra	37
2.7.1 Población	37
2.7.2 Muestra	38
2.8 Metodología de la investigación	38
2.8.1 Preparación y dilución de la muestra	38
2.8.2 Métodos y/o técnicas a realizar	40
III. RESULTADOS	47
IV. DISCUSIÓN	63
CONCLUSIONES	72
RECOMENDACIONES	75
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
ANEXOS	90

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Representación en gráfico de barras de RAMV presentes en muestras de medicina natural.	49
FIGURA 2. Representación en gráfico de barras de mohos y levaduras presentes en muestras de medicina natural.	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Productos de medicina naturista.	37
Tabla 2. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos aerobios mesófilos viables (RAMV) en productos naturales.	47
Tabla 3. Recuento de coliformes totales, técnica del Número más probable	51
Tabla 4. Enumeración promedia de mohos y levaduras de los productos de medicina natural (Método del Recuento Estándar en Placa) (ICMSF, 2000).	53
Tabla 5. Enumeración de estafilococos coagulasa positivo.	57
Tabla 6. Investigación de <i>Salmonella</i> en productos de medicina natural.	59
Tabla 7. Investigación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en productos de medicina natural.	61

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo 1.** Figura de los medicamentos naturistas expendidos en la ciudad de Tacna (Riñosan, Moringa, Glucosamina, Quemador de grasa, Higasan, Yacón, Alcachofa, Graviola, Noni).
- Anexo 2.** Figura del pesado de muestras y preparación de la dilución 10^{-1} de los productos naturales expendidos en casas naturistas de la ciudad de Tacna.
- Anexo 3.** Figura de preparación de las diluciones seriales de las muestras de productos naturales expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna.
- Anexo 4.** Figura de inoculación en caldo Verde Brillante Bilis de las diluciones seriales de las muestras de productos naturales expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna.
- Anexo 5.** Figura de siembra en Agar Sabouraud de las diluciones seriales de las muestras de productos naturales expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna.

Anexo 6. Resultados de Numeración de Coliformes Totales de las muestras de productos naturales expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna.

Anexo 7. Resultados del Recuento de Mohos y Levaduras de las muestras de productos naturales expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna.

RESUMEN

Se realizó el análisis microbiológico de nueve productos de medicina natural: Riñosan, Moringa, Glucosamina, Quemador de grasa, Higasan, Yacón, Alcachofa, Graviola, Noni. Se evaluó el recuento de Aerobios Mesófilos Viables, recuento de coliformes totales, recuento de estafilococos coagulas a positivos, recuento de mohos y levaduras, investigación de *Salmonella sp* y la investigación de *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados indicaron que siete de las nueve muestras sobrepasaron el límite establecido por la OMS, citado por Zavaleta (1999), para bacterias mesófilas y mohos y levaduras ($\leq 10^4$ ufc/g). No hubo aislamiento de estafilococos coagulasa positivos, tampoco de *Salmonella* ni de *Pseudomonas aeruginosa*, mientras que se encontró coliformes totales en los productos de medicina tradicional correspondientes a Alcachofa y Graviola que sobrepasaron el límite de 1100 NMP/g establecido por la OMS citado por Zavaleta (1999).

Palabras clave: productos de medicina natural, contaminación, microorganismos, patógenos, mohos, levaduras.

ABSTRACT

Microbiological analysis of nine natural medicine products: Riñosan, Moringa, Glucosamine, Fat Burner, Higasan, Yacón, Artichoke, Graviola, Noni. The counts of Viable Mesophilic Aerobes, total coliform count, coagulant staphylococci to positive, yeast and mold count, *Salmonella sp* and *Pseudomonas aeruginosa* investigation were evaluated. The results indicated that seven of the nine samples exceeded the limit set by the WHO, cited by Zavaleta (1999), for mesophilic bacteria and molds and yeasts ($es \leq 10^4$ cfu / g). There was no isolation of coagulase positive staphylococci, neither *Salmonella* nor *Pseudomonas aeruginosa*, whereas total coliforms were found in the traditional medicine products corresponding to Artichoke and Graviola that exceeded the limit of 1100 NMP / g established by the WHO cited by Zavaleta (1999).

Key words: natural medicine products, contamination, microorganisms, pathogens, molds, yeasts

I. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce la importancia del rol que desempeña el uso y utilización de las plantas medicinales en la “Atención Primaria de la Salud”, recomienda y respalda su integración en los sistemas nacionales de salud, quienes estiman que casi el 80% de todos los habitantes de la tierra los usan para resolver sus principales problemas de salud datos obtenidos de la OMS (2008 y 2009). Para el año 2020 se estima que la población mundial será de 7 500 millones de personas, de las cuales el 75% corresponderán a países en desarrollo que consumirán solo 15% de los medicamentos convencionales del mercado. Estos datos permiten predecir que la mayoría de la población dependerá de las plantas medicinales, principalmente por sus escasos efectos secundarios, amplio margen terapéutico y su utilidad en la mejora de la calidad de vida de quienes sufren enfermedades leves o determinadas enfermedades crónicas. (Romero, 2005; Gonzales *et al.*, 2006). El Perú es un país poseedor de una gran biodiversidad y experiencia en el uso tradicional de plantas medicinales, fuente de recursos naturales para la investigación y desarrollo de fitomedicamentos. (Vila, 2009)

La comercialización de los productos naturales en Perú - Lima Metropolitana se desarrolla en sentido creciente sin importar el poder adquisitivo de la población usuaria, atribuyendo múltiples propiedades (terapéuticos y nutricionales) a un producto natural que no corresponde. (Valenzuela, 2005).

Toda esta demanda ha ocasionado que en el mercado aparezcan diversas presentaciones de estos productos, como son jarabes, pomadas, cápsulas, comprimidos, etc., y por lo tanto también, en los últimos años el aspecto comercial se ha elevado, apareciendo cada vez más locales o casas naturistas donde se expenden estos productos en sus distintas formas farmacéuticas. Esto puede aumentar las posibilidades de encontrar productos que estén contaminados, ya que generalmente se procesan de manera artesanal inadecuada, sin un manejo que garantice su calidad, poniendo en riesgo la salud del consumidor sobre todo si el paciente no goza de buena salud o es inmunosuprimido. Por lo tanto, se hace necesario el control de calidad de estos productos, control que debe empezar desde la materia prima debido a que esta ha pasado por el campo y la cosecha, las cuales tienen un alto riesgo de contaminación microbiana (Kneifel, 2002), control que deberían de realizarse por las empresas que expenden estos productos, y para la verificación si cumplen

con las buenas prácticas de manufactura asegurando productos de buena calidad.

La medicina tradicional o convencional, en la cultura de los pueblos, ha permanecido a lo largo de la historia en muchos lugares, cuyas costumbres se han transmitido de generación en generación y debido a factores de migración principalmente se han ido difundiendo en muchos territorios, puesto que la medicina natural viene jugando un papel importante como medio para tratar y curar enfermedades.

Este conocimiento transmitido por generaciones pasadas en el manejo de las plantas medicinales y todo su proceso manufacturero artesanal, ha permitido que surja la necesidad de buscar alternativas que ayuden a entregar estos productos al consumidor mediante productos confiables y seguros, los cuales garanticen la inocuidad y eviten daños en la salud del consumidor.

Puesto que existen diversas casas naturistas comerciales, que bajo los conocimientos de los ancestros han permitido que usen este conocimiento para procesar las plantas medicinales, en productos naturales, para curar o tratar distintos tipos de enfermedades, cuyos

productos son procesados por estas casas naturistas y muchas de estas no cumplen con los controles de calidad exigidos por la normatividad, comercializando estos productos de forma libre sin contemplar los riesgos que podrían ocasionar a los consumidores.

Los resultados, de no cumplir con los límites permisibles, repercutirían en la salud del consumidor o incluso contribuirían en una mayor alteración en la enfermedad que se está predisponiendo a ser tratada con este producto natural, puesto que la calidad microbiológica cambia significativamente dependiendo de las buenas prácticas con que han sido elaborados estos productos, puede existir un mayor riesgo de contaminación del producto por microorganismos patógenos los cuales podrían causar daño en la salud del consumidor.

1.1. Problema de investigación

Considerando solo las variables más importantes que influyen directamente en la calidad microbiológica de los productos naturales expendidos y elaborados por las diferentes casas naturistas, en la presente investigación se planteó el siguiente problema: ¿Cómo será la calidad microbiológica y qué microorganismos contaminantes serán más frecuentes en los productos naturales expendidos en las casas naturistas de la Ciudad de Tacna?

1.2. Justificación

En los últimos años la demanda de plantas medicinales se ha incrementado considerablemente, esto comprueba la gran popularidad de la medicina tradicional que, sumado a los bajos costos, en comparación de los productos farmacéuticos, justifican este incremento. Esta demanda ha ocasionado que en el mercado aparezcan diversas presentaciones de estos productos, como son jarabes, pomadas, cápsulas, comprimidos, etc., y por lo tanto

también, en los últimos años el aspecto comercial se ha elevado, apareciendo cada vez más locales o casas naturistas; donde se expenden estos productos, en sus distintas formas farmacéuticas. Esto puede aumentar las posibilidades de encontrar productos que estén contaminados, ya que generalmente se procesan de manera artesanal inadecuada, sin un manejo que garantice su calidad, poniendo en riesgo la salud del consumidor sobre todo si el paciente no goza de buena salud o es inmunosuprimido. Por lo tanto, el control de calidad de estos productos es necesario, control que debe empezar desde la materia prima debido que esta ha pasado por el campo y la cosecha, las cuales tienen un alto riesgo de contaminación microbiana (Kneifel, 2002), control que deberían de realizarse por las empresas que expenden estos productos y cuya verificación debería cumplir con las buenas prácticas de manufactura asegurando productos de buena calidad. La entidad encargada de velar por el control y la vigilancia de estos productos es la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID) la cual viene cumpliendo este rol desde la aprobación del Decreto Supremo D. S. 016- 2011.

Aunque el uso de productos medicinales naturales está muy difundido en la población, poco se ha avanzado respecto a su control de calidad. El Centro Nacional de Control de Calidad, del Instituto Nacional de Salud, indica que el control de calidad de estos productos le compete a un grupo multidisciplinario de profesionales, el cual debe establecer un sistema de control de calidad apropiado, y que el principal problema era la obtención del Registro Sanitario. Tanto los que fabrican como los que comercializan o expenden estos productos, tienen gran responsabilidad sobre su calidad, son pocos los laboratorios que cumplen con los requisitos de ley para la fabricación y comercialización de estos productos. En nuestra localidad el incremento de la demanda de estos productos ha hecho que se incrementen las casas naturistas y el comercio ambulatorio, más no hay un control sanitario de estos productos, sin embargo al realizar un preensayo microbiológico de algunos productos que se expenden en forma de cápsulas, estos mostraron cifras elevadas que superan los límites máximos permisibles propuestas por la OMS dándonos una idea del estado sanitario de los productos naturales expendidos en la ciudad de Tacna. En el presente trabajo se pretende conocer si las cápsulas de estos productos naturales

presentan una carga microbiana elevada que pueda tener algún riesgo en la salud, sobre todo en personas inmunosuprimidas o con algún problema de salud.

Este trabajo de investigación consistió en determinar la calidad microbiológica de los productos expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna, con apoyo de la DIGEMID (Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas).

1.3. Importancia de la investigación

El incremento del consumo de productos naturales como una alternativa de uso ante los productos farmacéuticos, añadido a su bajo costo y al inadecuado control sanitario trae como consecuencia un elevado riesgo para la salud del consumidor, sobre todo si tienen un sistema inmunológico debilitado; asimismo el escaso cumplimiento de las buenas prácticas de fabricación traen consigo una pésima calidad microbiológica de los productos naturales expendidos en la ciudad de Tacna.

1.4. Hipótesis

Los productos naturales expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna presentan una deficiente calidad microbiológica; siendo los microorganismos más frecuentes aislados los mohos y levaduras.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

- Determinar la Calidad Microbiológica y los microorganismos contaminantes más frecuentes en los productos naturales expendidos en la ciudad de Tacna.

1.5.2. Objetivos Específicos

- Determinar el recuento de bacterias Mesófilas Viables, Mohos y Levaduras, por el método de recuento en placa, en los

productos naturales expendidos en casas naturistas de la ciudad de Tacna.

- Determinar el recuento de Coliformes Totales por la técnica del número más probable, en los productos naturales expendidos en casas naturistas de la ciudad de Tacna.
- Investigar la presencia de microorganismos Como *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Staphylococcus aureus*, en los productos naturales expendidos en casas naturistas de la ciudad de Tacna.

1.6. Antecedentes

Las investigaciones realizadas en la evaluación de la calidad microbiológica de los productos naturales, se han reportado en pocos estudios, entre los más destacados se encuentran los siguientes:

García et al. (2009) detectaron las reacciones adversas asociadas al uso de la medicina natural mediante un estudio descriptivo, retrospectivo, observacional, longitudinal durante los

años 2003 y 2007. Observando un predominio en la frecuencia de aparición de las reacciones adversas a medicamentos en el sexo femenino, los productos más frecuentes fueron *Allium sativum* (ajo), *Plectranthus amboinicus* (orégano), propóleos y fangos medicinales.

Kauma et al. (2009), examinó la calidad microbiológica de las preparaciones de hierbas comercializadas para las personas infectadas por el VIH cuyos conteos para Aerobios Mesofilos Viables oscilaron entre un estimado de $1,5 \times 10$ UFC/g a $7,1 \times 10^8$ UFC/g, para Coliformes Totales oscilaron entre <10 UFC/g a 3×10^6 UFC/g y para *E. coli* su carga varió de <10 UFC/g hasta 5×10 UFC/g, y los recuentos de *S. aureus* osciló entre un estimado <10 UFC/g a $2,5 \times 10^3$ UFC/g, para levaduras y mohos los conteos oscilaron entre un estimado <10 UFC/g a 9×10^4 UFC/g. concluyendo su evaluación de acuerdo a los límites de la Organización Mundial de la Salud para las hierbas medicinales encontró que superaban los límites permitidos: 33% (Aerobios Mesofilos Viables), 50% (Coliformes) y 33% (Levaduras y mohos). Un total de 67% de las muestras contenían cargas de *S. aureus* por encima del estándar de la Farmacopea de Estados Unidos.

Alvarez (2007) realizó una revisión evaluando información relevante sobre diversas reacciones adversas severas atribuidas a medicamentos de relativa reciente introducción en el mercado mundial (productos naturales), intoxicaciones por medicamentos contaminados, así como respuestas inesperadas adversas de productos naturales, determinando que las reacciones adversas a los medicamentos naturales pueden aparecer inesperadamente, la importancia y la actividad de la vigilancia podrían incluir los datos de la buena práctica de manufactura y controles de calidad. Además, que la obligación de los expertos de los organismos reguladores es decidir sobre los datos acopiados a fin de evitar alguna tragedia, sufrimientos o daños en los usuarios de medicamentos y costos innecesarios en la economía, porque al final será siempre la sociedad quien pagará por ello.

Torres (2006), evaluó la calidad microbiológica de materias primas para la elaboración de productos naturales, considerando el recuento de aerobios mesófilos, hongos y levaduras y la presencia de microorganismos patógenos como *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp.* y *Staphylococcus aureus*; cuyos

resultados dieron datos significativos en relación con la presencia o ausencia de microorganismos patógenos, recuentos para aerobios mesófilos, mohos y levaduras. Concluyendo que estos se encontraban dentro de los valores microbiológicos presentes en la normatividad vigente, por lo tanto no implicaban riesgos para la salud del consumidor.

1.7. Marco teórico

1.7.1. Medicina tradicional

La medicina tradicional debe cumplir con el requisito de tener arraigo histórico, cultural y social, en el entramado de la tradición de un pueblo. Así, la medicina tradicional se define en concordancia con la tradición del pueblo que la utilice, las medicinas tradicionales constituyen un patrimonio anónimo de un pueblo, que se transmite de generación en generación por transmisión oral, que sus creencias y prácticas son perdurables, que se fundamentan en conocimientos empíricos acerca del medio ambiente basados en la observación y en la tradición que permiten al

hombre intentar el control de su medio ambiente, que abarca un número pequeño de recursos y componentes sobre los que cada cultura se diferencia por su utilización particular. (Andrade *et al.*, 2005).

En 1976, la Organización Mundial de la Salud, definió a la Medicina Tradicional como la suma de todos los conocimientos teóricos y prácticos, explicables o no, utilizada para el diagnóstico, prevención o eliminación de trastornos físicos, mentales o sociales, basándose únicamente en la experiencia y la observación, transmitida en forma verbal o escrita de generación a generación (Castillo, 1990).

1.7.2. Recursos terapéuticos naturales

Es todo material que proviene de organismos vivos y de minerales que poseen actividad farmacológica definida, Se clasifican en: recurso natural de uso en la salud y producto natural de uso en la salud. (Ministerio de salud, 1999; Ministerio de salud, 2000).

a. Recurso natural de uso en la salud

Es todo material que proviene de organismos vivos y de minerales, posee actividad farmacológica comprobada, es presentado para su comercialización sin haber sido sometido a procesos artificiales que alteren su composición natural y es envasado sin forma farmacéutica. Podrá ser comercializado sin registro sanitario, siempre y cuando en el rotulado de su envase no aparezcan indicaciones de uso terapéutico alguno. (Ministerio de Salud, 1999).

b. Producto natural de uso en salud

Es el producto medicinal con actividad farmacológica comprobada, elaborado a partir del recurso natural de uso en salud, cuya sustancia activa corresponda a alguna de las partes de dicho recurso o es el resultado de asociaciones, combinaciones o mezclas de recursos natural, que es presentado en una forma farmacéutica y que se utiliza con fines terapéuticos (Dominguez, 1995; Ministerio de salud, 1999).

Los productos naturales de uso en salud no pueden tener combinaciones con sustancias químicas de actividad biológica definida.

1.7.3. Control de calidad

La calidad de los productos medicinales se puede definir como la suma de todos los factores o características que contribuyen a la inocuidad, eficacia y aceptabilidad del producto. Estas características o indicadores de la calidad están relacionados con la pureza, identidad, uniformidad, entre otras.

La identidad indica que el material de interés corresponde macroscópica y microscópicamente a la droga descrita. Como pureza se entiende que el producto esté libre de contaminantes o partículas extrañas; es decir, en el análisis de pureza se determina la contaminación por larvas, hongos, bacterias, etc. que pueda afectar al paciente consumidor. La uniformidad se refiere a que las cápsulas, tabletas, jarabes, etc. no deben cambiar de consistencia, olor, forma ni tamaño (Estrella *et al.*, 1995).

El control de calidad de un producto comprende el muestreo y las pruebas analíticas, desde la materia prima hasta el producto terminado, que aseguren que se llevan a cabo los ensayos necesarios y que los materiales no son liberados para el uso, ni los productos liberados para la venta o distribución, hasta que su calidad química y microbiológica haya sido evaluada como satisfactoria. El control de calidad no se limita a las operaciones de laboratorio, sino que debe estar involucrado en todas las decisiones vinculadas con la calidad del producto (Ministerio de salud, 2000).

Las pruebas microbiológicas realizadas para evaluar la calidad de productos medicinales herbales de uso oral, establecen mediante estos ensayos, aerobios mesofilos viables, a presencia o ausencia de bacterias, enterobacterias y mohos; así como microorganismos oportunistas como *Pseudomonas aeruginosa* y patógenos como *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. La finalidad del control microbiológico de calidad es evaluar cuantitativa y cualitativamente, los microorganismos los cuales nos deberán exeder los limites

recomendados por la Organización Mundial de la Salud (Valenzuela, 2005).

1.7.4. Microorganismos contaminantes

El crecimiento bacteriano ocasiona alteraciones de carácter organoléptico; además, si se permite la llegada o multiplicación de agentes infecciosos o toxigénicos, los productos pueden constituirse en vehículos de transmisión de enfermedades, tales como la salmonelosis o la intoxicación estafilocócica (García, 2012).

El recuento de bacterias estima la flora total, pero no específica el o los tipos de gérmenes refleja las condiciones de manipulación, el estado de alteración, además la calidad sanitaria de los productos analizados; por lo tanto, los recuentos altos a menudo indican materias primas o tratamientos biológicos no satisfactorios (Jay, 2012).

Escherichia coli es un germen cuyo hábitat natural es el trato intestinal del hombre y de los animales homeotermos; por lo tanto, su presencia en alimentos

indica contaminación directa o indirecta con la materia fecal del hombre o los animales, e indica la posible presencia de patógenos, aunque no siempre guarda correlación con ellos. La ausencia de microorganismos intestinales en los productos analizados indica exclusivamente buenas condiciones de limpieza; pero no la inocuidad, esta solo puede garantizarse por la investigación de los organismos patógenos (Jay, 2012).

Escherichia puede desempeñar una función nutricional en el tracto intestinal mediante la síntesis de vitaminas, especialmente en vitamina K, pero también puede ser patógeno oportunista que causa diarreas infantiles, infecciones como la sepsis por Gramnegativos, infecciones de las vías urinarias, neumonía en enfermos con inmunosupresión y meningitis en recién nacidos (García *et al.*, 2009).

El género *Staphylococcus* contiene especies patógenos para las personas y animales, su hábitat natural es la piel; en las personas está asociado al tracto nasal, piel, boca. Se puede aislar en las heces y, esporádicamente, en una gran diversidad de sitios del

medio ambiente, tales como el suelo, aire, polvo, agua de mar y agua dulce, superficie de plantas. Son relativamente resistentes a la desecación, y por tanto, pueden dispersarse fácilmente a través del aire, en partículas de polvo. En las personas hay dos especies importantes: *Staphylococcus epidermidis*, una forma no pigmentada, no patógena, que habitualmente se encuentra en la piel y en las membranas mucosas, y de *Staphylococcus aureus*, una forma con pigmentación amarilla, asociada a condiciones patológicas, incluidos los diviesos, espinillas y el impétigo, la neumonía, la endocarditis, la meningitis y la artritis. (ICMSF, 2000). Normalmente es un germen inofensivo de la superficie corporal, en la que desempeña una función útil metabolizando los productos de la piel y posiblemente evitando la colonización de la piel por organismos patógenos; sin embargo, *Staphylococcus aureus* es capaz de causar abscesos cutáneos de poca importancia; por ejemplo forúnculos y más gravemente, actúa como patógeno oportunista cuando la barrera cutánea es quebrantada o cuando la resistencia del hospedador es escasa (Adams, 2008).

Puesto que existe un elevado porcentaje de personas portadoras, la contaminación por manipuladores de alimentos probablemente también es un hecho corriente. La colonización de las fosas nasales y la garganta por el organismo implicará automáticamente su presencia en la piel, por lo que el alimento también se puede contaminar a partir de lesiones cutáneas infectadas o al toser y al estornudar. Por lo tanto, la presencia de estafilococos en los alimentos se puede interpretar, por lo general, como indicativo de contaminación a partir de la piel, la boca y las fosas nasales de los manipuladores, si bien el material y equipo sucios y las materias primas de origen animal pueden ser asimismo la fuente de contaminación; puede ser relacionado con el control de calidad higiénico-sanitario de procesos de producción de alimentos, donde *Staphylococcus aureus* sirve como indicador de contaminación post-proceso y condiciones de sanidad de superficies destinadas al contacto con alimentos (ICMSF, 2000). Este coco Grampositivo produce varias enterotoxinas que secreta al medio circundante o al alimento. Si se ingiere el alimento que contiene la toxina,

en el plazo de cuatro horas (se ha señalado una variación de 1 a 6 horas), aparecen los síntomas de la intoxicación que incluye náuseas, vómitos, contracciones abdominales, diarrea, sudoración, cefalea, postración y algunas veces descenso de la temperatura (Madigan, 2012).

La *Salmonella* es huésped habitual del tracto gastrointestinal, por lo tanto, es excretada con las heces y desde allí pueden ser transportadas por insectos y por otros seres vivos a diversos lugares como el suelo, agua, alimentos, y desde estos medios hacia el hombre, quien al consumir alimentos contaminados con este microorganismo, volverá a diseminarlo por la materia fecal, cerrando así el ciclo de infección. La única vía de transmisión de estos microorganismos en el cuerpo humano es la oral, de allí la importancia de detectarla en los alimentos. La mayoría son considerados patógenos para el hombre, aunque difieren en la gravedad y características de la enfermedad; *Salmonella typhi* es la causante de la fiebre tifoidea, mientras que *Salmonella typhimurium* es la causa más común de salmonelosis en los humanos (ICMSF, 2000).

Los síntomas de salmonelosis solo aparecen cuando el patógeno se multiplica en el intestino, por lo cual, estos aparecen días después de haber comido o ingerido el alimento, aunque se han señalado periodos de tiempo más cortos como 12 a 24 horas. Estos síntomas son dolor de cabeza, náuseas, vómitos, escalofríos, dolor abdominal, diarrea, seguidos de fiebre que duran unos cuantos días; generalmente se acompañan de postraciones, debilidad muscular, decaimiento, inquietud y somnolencia (Madigan, 2012).

La sola presencia de *Salmonella*, cualquiera sea su número, en un alimento ya preparado para el consumo, se considera siempre como peligro grave para la salud.

Las especies de *Pseudomonas* se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza: suelo, animales, plantas, agua. Solo unas pocas especies son peligrosas para los animales y el hombre, mientras que para otras muchas son patógenas para las plantas. Únicamente dos especies: *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas cocovenans*, han sido señaladas como causa de intoxicación alimentaria. La enfermedad en los adultos

curso con una enteritis leve; por el contrario, en niños, puede ser grave, e incluso mortal, a causa de la diarrea profusa que se produce (ICMSF, 2000).

Los hongos comprenden mohos y levaduras. Se da el nombre de mohos a ciertos hongos multicelulares filamentosos, dotados a micelio verdadero, su crecimiento en alimentos se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado. La mayoría de hongos son parásitos de vegetales, solo algunos causan enfermedades en animales, incluido el hombre. Su importancia en la contaminación de alimentos se debe a su capacidad para deteriorarlos y al potencial de algunos de ellos para elaborar micotoxinas (sustancias venenosas), así como su capacidad para producir infecciones. Dentro de los mohos que producen micotoxinas, se encuentran *Aspergillus spp*, y *Penicillium spp* (Madigan, 2012).

1.7.5. Fuentes de contaminación

Para evitar la contaminación microbiana y obtener productos de óptima calidad, se deben seguir unas buenas

prácticas de manufactura, basadas en el control de la materia prima, de las prácticas de manufactura o producción, del personal y del ambiente de trabajo.

a. Materia prima

Para conseguir una elevada eficacia terapéutica, algunos criterios son aplicables, deben satisfacer la exigencia de estabilidad, pureza, esterilidad, libre de contaminantes residual y pesticida y libre de microorganismos; puesto que las plantas medicinales utilizadas que se destinan a uso terapéutico deberán ser conforme a lo establecido por las normas oficiales. (Sharapin, 2000).

La contaminación de los productos vegetales se produce por la proximidad de estos con el suelo, tanto durante su desarrollo como en la recolección y/o a través de las aguas de riego. De esta manera, cuando la materia prima llega a la fábrica para ser procesada, puede contar ya con una carga microbiana importante, pudiendo convertirse vehículo de cualquier patógeno

causante de intoxicación alimentaria y producir enfermedad en el consumidor si el proceso de elaboración no se realiza adecuadamente.

Debido a que la materia prima puede ser vehículo de microorganismos y que la presencia de estos determinará la calidad del producto, se debe tener un control riguroso en su recolección, transformación y almacenamiento.

b. Proceso de producción

En ocasiones, las distintas técnicas y/o etapas de producción pueden convertirse en potenciales fuentes de contaminación; para evitar esto se debe tener una rigurosa vigilancia en cuanto a medidas de higiene en todo el proceso, tanto a nivel personal, como de la maquinaria empleada, ambientes de trabajo, material y materia prima de óptima calidad, lo que conlleve a evitar la contaminación microbiana, resaltando que el hombre sano a través de su piel aporta una carga microbiana, la cual forma parte de su micropoblación normal. Esta capacitación debe ser continua

y evaluarse periódicamente. Asimismo, el personal deberá ser conocedor de las fuentes de contaminación durante su trabajo y de las medidas a adoptarse para evitar todo tipo de contaminación (Ministerio de salud, 2000).

El personal, sobre todo el involucrado con el proceso de elaboración, deberá ser examinado periódicamente para asegurarse de que no padezcan ningún proceso infeccioso; diariamente se les deberá observar si tienen signos visibles de infección en las vías respiratorias altas, heridas infectadas, lesiones cutáneas y enfermedades intestinales; así mismo, deberá mantener adecuada higiene personal, siendo importante la higiene de las manos, las que pueden ser vehículo de agentes contaminantes, tanto de gérmenes como de partículas, por esto es recomendable utilizar guantes (Ministerio de salud, 2000).

Las buenas prácticas de manufactura indican que todo personal, antes y durante su permanencia en la empresa debe:

- Someterse a exámenes médicos regulares para garantizar que no se ponga en riesgo de contaminación de los productos en ninguna fase del proceso.
- Recibir adiestramiento en las prácticas de higiene personal. Cualquier afección a la piel o enfermedad infectocontagiosa, será causal de separación temporal del trabajador del área de producción.
- Evitar el contacto directo de las manos del operario con materias primas, productos intermedios o a granel durante la fabricación o envasado.
- No fumar, comer, beber, masticar, mantener plantas, alimentos, bebidas o medicamentos personales en las áreas de producción, laboratorio o almacén.
- Vestir ropas adecuadas a las tareas que realiza, incluyendo cobertores de cabeza y mascarilla.
- Usar ropas protectoras adecuadas cuando personas ajenas ingresen a las áreas donde el producto se encuentre expuesto.

c. Ambiente de trabajo

Una de las principales fuentes de contaminación es el aire ambiental, por el permanente contacto de este con la materia prima con los demás elementos implicados en la elaboración de medicamentos.

El aire no es un medio adecuado para el desarrollo de microorganismos, sin embargo, puede transportar cantidades significativas de estos en partículas sólidas o gotas de agua, al estornudar o toser, o incluso al hablar, se expelen gotitas de agua, las cuales pueden contener microorganismos. Los microorganismos del aire también pueden provenir del suelo, agua, plantas y las personas que se encuentran en los diferentes ambientes (Madigan, 2012).

Para evitar la contaminación se debe controlar al aire ambiental antes del ingreso del personal, durante el proceso y al final de la jornada de trabajo para verificar la eficacia de los filtros de aire y de todas las precauciones tomadas para conseguir un aire en una mínima carga microbiana. Para esto, las áreas de producción deben ser sometidas a controles microbiológicos periódicamente. Además, se debe controlar la maquinaria y utensilios utilizados durante el

proceso, estos se limpiarán después de cada proceso con agua caliente o vapor de agua. Otra fuente de contaminación son las superficies de paredes, pisos y techos; estos deben ser lisos, libres de grietas y aberturas y fáciles de limpiar y desinfectar (Ministerio de salud, 2000).

d. Envases y almacenamiento

El tipo de envase y el proceso de envasado guardan estrecha relación con la conservación de la calidad del medicamento; todas las medidas tomadas durante el proceso de fabricación, para evitar cualquier tipo de contaminación, pueden resultar inútiles si no se cuenta con envases adecuados. De este modo, el envase se puede convertir en un factor crítico para la calidad del medicamento; por ejemplo, un medicamento fotosensible requiere de un envase resistente al paso de la luz (ámbar) (García *et al.*, 2009).

El tiempo de vida útil de los medicamentos oscila entre 3 y 5 años, dependiendo de la forma farmacéutica; durante este periodo de tiempo la naturaleza y calidad del envase tiene gran importancia en la conservación y almacenamiento

de los mismos. Por ello, es aconsejable y conveniente que los envases sean herméticamente cerrados, para que la humedad del ambiente no pueda penetrar y favorecer el desarrollo de microorganismos, siendo más frecuente la contaminación por mohos.

El área de almacenamiento debe tener capacidad suficiente para almacenar ordenadamente las materias primas, materiales de empaque, productos intermedios, productos terminados, en cuarentena, liberados; cada uno de los cuales estará distribuido en zonas delimitadas. Esta área debe ser limpia, seca y mantenida a temperatura adecuada y constante, ya que las variaciones de temperatura pueden modificar las características fisicoquímicas de los preparados farmacéuticos y favorecer el desarrollo de microorganismos (Ministerio de salud, 2000).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material de vidrio, plástico y otros

- Matraz de 250 ml
- Tubos de ensayo tapa rosca de 16 x 160 mm
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm
- Campanas Durham
- Placas Petri de 10 x 100 mm
- Probeta de 100 ml
- Micropipeta de 100 a 1000 μL
- Puntas de plástico Brand de 1000 μL
- Pizeta de plástico
- Gradilla para tubos de ensayo
- Asa Digrasky
- Vaso precipitado de 250 ml
- Mascarilla de protección
- Guantes descartables
- Gorros descartables de protección
- Algodón

- Papel Kraft
- Marcador de tinta indeleble
- Mechero de vidrio
- Espátulas
- Asa de siembra

2.2. Equipos

- Balanza
- Horno
- Incubadora
- Autoclave
- Cocina
- Refrigeradora
- Microscopio

2.3. Medios de cultivo y reactivos

- Agua peptonada Tamponada
- Medio Rappaport – Vassiliadis
- Caldo verde brillante bilis lactosa (caldo Brila)

- Agar Sabouraud
- Agar Nutritivo
- Agar Hierro Tres Azúcares (Agar TSI)
- Agar Úrea
- Medio Lisina Descarboxilasa
- Agar Nutritivo Semisólido
- Agar Cetrimide
- Plate Count Agar (PCA)
- Agar Baird Parker
- Medio BHI (Brain Heart Infusion)
- Agar Salmonella-Shigella
- Caldo Úrea
- Indol
- Rojo de Metilo
- Voges Proskauer
- Medio Citrato de Simmons
- Agar Triple hierro
- Alcohol etílico de 70°
- Alcohol yodado
- Agua destilada
- Tinción de Gram

- Reactivo para la detección de β -galactosidasa
- Reactivo para Voges Proskauer (alfa naftol KOH 4%)
- Reactivo para la detección del Indol (Reactivo de Kovac's)

2.4. Diseño experimental de la investigación

La presente investigación se define como un estudio de tipo descriptivo, con un muestreo por conveniencia no probabilístico con dos repeticiones.

2.5. Variables e indicadores de estudio

2.5.1. Variable Independiente

Presencia de microorganismos en los medicamentos naturistas.

Indicadores

- Recuento de microorganismos aerobios mesofilos
- Recuento de mohos y levaduras

- Numeracion de Coliformes totales
- Presencia de microorganismos patógenos

2.5.2. Variable Dependiente

Calidad microbiológica de los productos naturales expendidos en casas naturistas de la ciudad de Tacna.

Indicador

- Porcentaje de muestras aptas y no aptas que cumplen con la normatividad.

2.6. Área de estudio

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la E.P. de Biología - Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

2.7. Población y muestra

Según entrevista personal con los dueños de las casas naturistas, indicaron que los productos más comercializados fueron los que se detallan en la Tabla 1.

2.7.1. Población

Los medicamentos naturales de mayor consumo expedidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna, los cuales se detallan en la Tabla 1 a continuación:

Tabla 1.
Productos naturales analizados microbiológicamente

N° Muestras	PRODUCTO	Laboratorios de los productos naturales
1	Riñosan	Oasis de la Salud
2	Moringa	Natura Hoja de Oro
3	Glucosamina	Natura Hoja de Oro
4	Quemador de grasa	Natura Hoja de Oro
5	Higasan	Oasis de la Salud
6	Yacón	Oasis de la Salud
7	Alcachofa	Oasis de la Salud
8	Graviola	Oasis de la Salud
9	Noni	Oasis de la Salud

Fuente: Elaboración propia.

2.7.2. Muestra

Las muestras de medicamentos naturales fueron obtenidas a través de pesquisas en las diferentes casas naturistas de la ciudad de Tacna, apoyado por la Dirección Regional de Medicamentos Insumos y Drogas (DIREMID). Los medicamentos correspondieron a los productos Riñosan, Moringa, Glucosamina, Quemador de grasa, Higasan, Yacón, Alcachofa, Graviola y Noni. De cada producto se analizó aproximadamente 10 gramos y se analizó por duplicado.

2.8. Metodología de la investigación

2.8.1. Preparación y dilución de la muestra

Para realizar el análisis microbiológico de cada una de las muestras, primero se desinfectó la tapa con alcohol de 70°, luego se abrió los productos y se los acercó a la llama del mechero Bunsen.

Para el cálculo del peso, primero se abrieron las cápsulas usando pinzas estériles, luego se recibió el contenido en un vaso de precipitado estéril; y finalmente se pesó aproximadamente 10 gramos para la muestra.

Los 10 gramos de muestra tomada, se suspendieron en 90 ml de Agua Peptonada Bufferada (APB) estéril contenidos en un matraz, luego se obtuvo la dilución inicial 10^{-1} , y a partir de ella se realizaron diluciones decimales. De la dilución 10^{-1} , bien homogeneizada, por agitación manual, se tomó 1 ml con pipeta estéril y se suspendió en 9 ml de APB; así se obtuvo la dilución 10^{-2} ; las siguientes diluciones se realizaron de forma análoga.

Teniendo la muestra preparada, se procedió a realizar el análisis de acuerdo a criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud, lo que se describe a continuación:

- Recuento de microorganismos aerobios mesófilos.
- Investigación de coliformes totales.

- Recuento de mohos y levaduras.
- Recuento de estafilococos coagulasa positivos.
- Investigación de Salmonella.
- Investigación de *Pseudomonas aeruginosa*.

2.8.2. Métodos y/o técnicas a realizar

- Numeración de Microorganismos Aerobios Mesófilos Viables: Recuento Estándar en Placa (ICMSF, 2000)

- ✓ Se pipeteó, por duplicado, en placas de Petri de 10 x 100 mm, las alícuotas de 1 ml de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} .
- ✓ Se fundió el agar para recuento en placa, *Plate Count Agar* (PCA), utilizando un recipiente conocido como “baño María”. Se templó el medio de 44° - 46°C, y se vertió inmediatamente en las placas Petri.

- ✓ Inmediatamente se mezcló el inóculo con el medio fundido y templado, este procedimiento se realizó de la siguiente manera: (a) se imprimió a la placa movimientos de vaivén cinco veces en una dirección, (b) se hizo girar cinco veces en sentido de las agujas del reloj, (c) se volvió a imprimir movimientos de vaivén en una dirección que forme ángulo recto con la primera y (D) se hizo girar cinco veces en sentido contrario a las agujas del reloj.

- ✓ Una vez solidificado el agar, se invirtió las placas y se incubó de 29° a 31°C durante 48 ± 3 horas. Transcurrido este tiempo, se procedió a realizar los cálculos de recuento estándar en placa; de las placas correspondientes a una dilución, que presenten entre 30 y 300 colonias, se contó todas las colonias de cada placa; se halló la media aritmética y se multiplicó por el factor de dilución (inversa de dilución).

- Recuento de Coliformes Totales: Técnica del Número más Probable (NMP). Método Norteamericano (ICMSF, 2000)

- ✓ Se pipeteó 1 ml de cada una de las diluciones del homogeneizado de la muestra, en tubos conteniendo 10 ml de caldo verde brillante bilis 2% lactosa (BRILA), utilizando tres tubos por cada dilución. Estos tubos fueron incubados a 35° - 37°C durante 48 horas.
- ✓ Pasadas las primeras 24 horas, se anotó los tubos que mostraron producción de gas y se devolvió a la estufa los tubos negativos para su incubación durante 24 horas más.
- ✓ Pasadas las 48 horas, se anotaron los tubos que mostraron producción de gas y luego se buscó el valor correspondiente al número de tubos positivos de cada dilución en la tabla del NMP.

- Recuento de mohos y levaduras (Método del Recuento Estándar en Placa) (ICMSF, 2000)

- ✓ Se pipeteó alícuotas de 0,1 ml de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} de la muestra en placas conteniendo 10-15 ml de Agar Saboraud, extendiendo el inóculo con un asa de Drigrasky, manteniendo las placas hacia arriba hasta que el inóculo fue absorbido por el medio. Luego se incubó de 20° a 24°C, durante 3 a 5 días.
- ✓ Se contó las colonias en aquellas placas que contenían entre 30 y 300 colonias. Luego se calculó el número de levaduras y mohos por gramo o mililitro de alimento.

- Recuento de estafilococos coagulasa positivos (Método del Recuento Estándar en Placa) (ICMSF, 2000)

- ✓ Se pipeteó, por duplicado 0,1 ml de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} de la muestra y se transfirieron a

las placas de Petri con Agar Baird-Parker, extendiéndose el inóculo con un asa de Drigrasky y manteniendo las placas hacia arriba hasta que el inóculo fuera absorbido en el medio. Se incubaron las placas a 35°C durante 48 horas.

- ✓ Se eligieron las placas que contenían entre 20 y 200 colonias y se contaron todas las colonias de color negro rodeadas de las características reacciones en yema de huevo: (i) Una zona discreta de precipitado alrededor y debajo de la colonia, (ii) una zona clara o halo en torno a la colonia y precipitado visible debajo de este. Finalmente, se llevó a cabo la prueba de coagulasa con un número significativo de colonias (no menos de cinco).

- ✓ El cálculo del número de *S. aureus* por gramo o mililitro de muestra, se realizó utilizando la proporción de las colonias seleccionadas productoras de coagulasa y la dilución correspondiente.

- **Investigación de *Salmonella* (ICMSF, 2000)**

- ✓ Primero se realizó un preenriquecimiento, donde se mezcló 10 gramos de muestra con 90 ml del diluyente Agua Peptonada Bufferada (APB) y se incubó a 35° - 37°C durante 18 a 24 horas.

- ✓ En el enriquecimiento selectivo, se pipeteó 1 ml del cultivo de preenriquecimiento en tubos con 10 ml de caldo Rappaport-Vassiliadis. Se incubaron en el recipiente “baño María” a 43° ± 0,05°C durante 24 horas.

- ✓ Luego se sembró en agar selectivo para *Salmonella*, después de la incubación, se tomó una asada del medio de enriquecimiento selectivo y se sembró por estría en agar *Salmonella - Shigella* (SS). Incubando a 37°C durante 18 a 24 horas, las colonias de *Salmonella* y *Shigella* son incoloras, transparentes en este medio. Después del periodo de incubación, se realizó las pruebas bioquímicas para su identificación: Indol, TSI, LIA, Caldo Úrea.

- **Investigación de *Pseudomonas aeruginosa* (ICMSF, 2000)**

- ✓ De las diluciones de las muestras 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} se tomaron alícuotas de 0, 1 ml y se depositaron en la superficie del medio Agar Cetrimide contenido en placas Petri (2 placas por cada dilución).
- ✓ Las alícuotas de 0,1 ml se extendieron sobre el medio tan pronto fue posible, utilizando las asas de Drigrasky y se dejó secando las superficies de las placas durante 15 minutos; incubándolas invertidas durante dos días a 29° - 31°C .
- ✓ El número de gérmenes por gramo de muestra se calculó siguiendo las indicaciones señaladas en el método de recuento estándar en placa; teniendo en cuenta que el inóculo en este caso fue de 0,1 ml, luego se multiplicó por 10. Las posibles colonias de *Pseudomonas aeruginosa* producen un pigmento verde azulado y son fluorescentes a la Luz UV de 366 nm, y son oxidasa positiva.

III. RESULTADOS

Tabla 2.
Recuento promedio de microorganismos aerobios mesófilos viables (RMAMV) en productos naturales

Nº Muestras	Productos	A: ufc/g
1	Riñosan	2,2 x 10 ⁴
2	Moringa	4,8 x 10 ³
3	Glucosamina	1,5x 10 ⁴
4	Quemador de grasa	6,5 x 10 ³
5	Higasan	1,3 x 10 ⁵
6	Yacón	1,8 x 10 ⁵
7	Alcachofa	8,7 x 10 ⁵
8	Graviola	5,5 x 10 ⁵
9	Noni	1,6 x 10 ⁵

--- Sobrepasan el límite máximo permisible, el cual es de 10⁴ ufc/g.

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 2 se aprecia el recuento de Microorganismos Aerobios Mesófilos, bajo la técnica de Recuento en Placa, encontrándose que los productos de medicina natural Riñosan, Glucosamina, Higasan, Yacon, Graviola, alcachofa y Noni sobrepasaron el límite establecido por la OMS, la cual es de 10^4 ufc/g, representando el 77,78 % del total de las muestras analizadas.

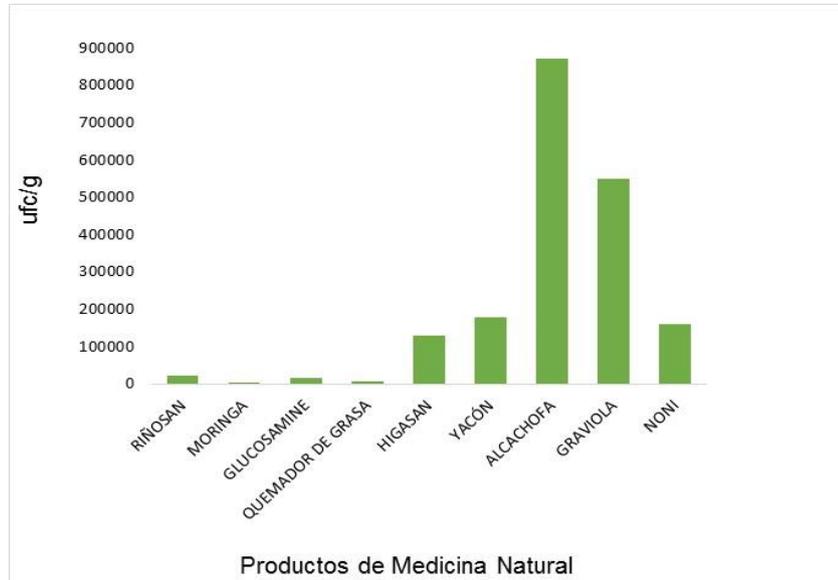


Figura 1. Representación en gráfica de barras del RMAV presentes en muestras de medicina natural.
Fuente: Elaboración propia.

La Figura 1 muestra que siete de los 9 productos analizados sobrepasaron el límite de 10^4 ufc/g. establecido por la OMS. Las cuales correspondieron a Glucosamina, Riñosan, Higsaw, Yacón, Alcachofa, Graviola y Noni, representando el 77,78 % del total de las muestras. El producto de medicina natural “alcachofa”, alcanzó la mayor cantidad de RAMV, correspondiente a $8,7 \times 10^5$ ufc/g.

Tabla 3.

Recuento promedio de coliformes totales por la Técnica del Número Más Probable (ICMFS, 2000)

N° Muestras	Productos	B: NMP/g
1	Riñosan	1 100
2	Moringa	65
3	Glucosamine	560
4	Quemador de grasa	554
5	Higasan	90
6	Yacón	90
7	Alcachofa	>1 100
8	Graviola	>1 100
9	Noni	< 1,8

-- *Sobrepasan el límite máximo permisible, el cual es 1 100 NMP/g*
Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 3 se aprecia el recuento de coliformes totales, mediante la técnica del Número Más Probable, encontrándose que los productos de medicina natural Graviola y Alcachofa sobrepasaron el límite establecido por la OMS, el cual es de 1100 NMP/g., representando el 22 % del total de las muestras.

Tabla 4.

Enumeración promedio de mohos y levaduras de los productos de medicina natural (Método del Recuento Estándar en Placa - ICMSF, 2000)

N° Muestras	Productos	D: ufp/g
1	Riñosan	1,8 x 10 ³
2	Moringa	6 x 10
3	Glucosamina	1,6 x 10 ³
4	Quemador de grasa	2,4 x 10 ²
5	Higasan	3,8 x 10 ⁴
6	Yacón	1,7 x 10 ⁴
7	Alcachofa	5,0 x 10 ⁴
8	Graviola	6,1 x 10 ⁴
9	Noni	1,0 x 10 ²

--- Sobrepasan el límite máximo permisible, el cual es de 100 ufp/g

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 4 se aprecia el recuento de mohos y levaduras, bajo la Técnica del Recuento en Placa, encontrándose que los productos de medicina natural Riñosan, Glucosamina, Quemador de grasa, Higasán, Yacón, Alcachofa y Graviola sobrepasaron el límite establecido por la OMS, el cual es de 100 ufp/g., representando el 77,78 % del total de las muestras.

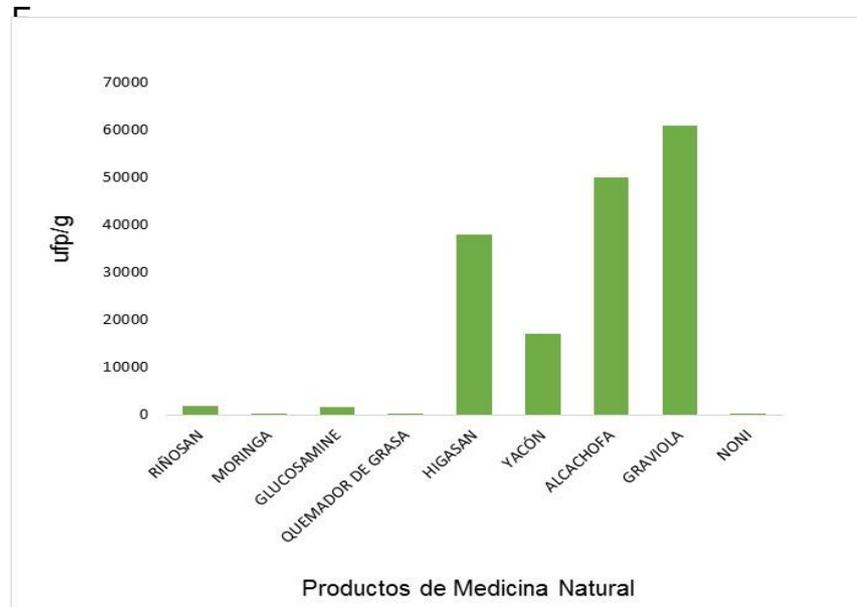


Figura 2. Representación, en gráfica de barras, de mohos y levaduras presentes en nuestras de medicina natural.
Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 2 se demuestra que los productos de medicina natural Riñosan, Glucosamina, Quemador de grasa, Higasan, Yacón, Alcachofa y Graviola sobrepasaron el límite establecido por la OMS (no mayor a 100 ufp/g), representando el 77,78 % del total de las muestras. Encontrándose la mayor población de mohos y levaduras en el producto Graviola con $6,1 \times 10^4$ ufp/g.

Tabla 5.
 Recuento promedio de *Staphylococcus aureus* de los
 productos de medicina natural analizados

N° muestras	Productos	C:ufc/g.
1	Riñosan	<10
2	Moringa	<10
3	Glucosamina	<10
4	Quemador de grasa	<10
5	Higasan	<10
6	Yacón	<10
7	Alcachofa	<10
8	Graviola	<10
9	Noni	<10

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 5 se observa que en las nueve muestras analizadas en el presente estudio presentaron ausencia de *Staphylococcus aureus*. Lo cual indica que no excede los límites recomendados por la Organización Mundial de la Salud (Ausencia/g) para productos medicinales herbales, es decir el 100 % del total de las muestras estuvieron aptas.

Tabla 6.
Investigación de *Salmonella*, promedio, en productos de medicina natural

Nº muestras	Productos	E:10 g.
1	Riñosan	Ausencia
2	Moringa	Ausencia
3	Glucosamine	Ausencia
4	Quemador de grasa	Ausencia
5	Higasan	Ausencia
6	Yacón	Ausencia
7	Alcachofa	Ausencia
8	Graviola	Ausencia
9	Noni	Ausencia

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 6 se observa que en las nueve muestras analizadas en el presente estudio no se aisló *Salmonella*, lo cual indica que no excede los límites recomendados por la Organización Mundial de la Salud (Ausencia/10 g) para productos medicinales herbales, representando el 100 % del total de las muestras aptas.

Tabla 7.
 Investigación de *Pseudomonas aeruginosa*, promedio,
 en productos de medicina natural (ICMSF, 2000)

N° muestras	Productos	E:1 g.
1	Riñosan	Ausencia
2	Moringa	Ausencia
3	Glucosamine	Ausencia
4	Quemador de grasa	Ausencia
5	Higasan	Ausencia
6	Yacón	Ausencia
7	Alcachofa	Ausencia
8	Graviola	Ausencia
9	Noni	Ausencia

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 7 se observa que en las nueve muestras analizadas en el presente estudio no se aisló *Pseudomonas aeruginosa*. Lo cual indica que no excede los límites recomendados por la Organización Mundial de la Salud (Ausencia/1 g) para productos medicinales herbales, representando el 100 % del total de las muestras aptas.

IV. DISCUSIÓN

El mercado global de plantas medicinales está creciendo a una tasa anual de 7% - 10% según reportes mencionados en Dubey *et al.* (2008), Shaikh *et al.* (2009), y por Shinwari *et al.* (2011). De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud alrededor del 80 % de las ciudades en vías de desarrollo dependen aun del sistema de medicina tradicional para su salud (Who, 2008). Las poblaciones de las diferentes partes del mundo emplean muchas plantas tradicionales, las cuales deben estar acreditadas (Shinwari *et al.*, 2013; Nadeem *et al.*, 2013). La preparación de hierbas usadas en diferentes formas puede llevar un largo número de microbios originarios del suelo generalmente adheridos a hojas, tallos, semillas y raíces de las hierbas (Adeleye *et al.*, 2005). Un problema que actualmente acontece es que las tradicionales actividades de los pueblos se extienden en el mercado global y esto puede traer dificultades en el control de calidad, composición y pureza herbaria (Ernst, 2004). La mayor parte de las plantas medicinales está conteniendo una extensa variedad de potenciales bacterias patógenas por consiguiente es imprescindible que la calidad esté garantizada, el sistema debe ser meticulosamente cumplido

en los suministros de plantas medicinales en la cadena de cultivación, colección y distribución según indica Farnaz *et al.* (2014).

Las muestras analizadas en el presente estudio: Riñosan, Higasan, Yacón, Alcachofa, Graviola, Noni, pertenecen al laboratorio Oasis de la Salud, y los productos Moringa, Glucosamine y Quemador de Grasa pertenecen al laboratorio Natura Hoja de Oro (ver **Tabla 1** y **Anexo 1**), este laboratorio no cuenta con número de registro sanitario según la rotulación del producto en el envase, cabe resaltar que cada producto que cuenta con un registro sanitario demuestra transparencia para la salud del consumidor, puesto que esto implica que dicho producto se encuentra bajo supervisión continua e inopinada por las entidades correspondientes que velan por la salud del consumidor, además de una mayor competitividad en el mercado. Según la base de datos de Registros Sanitarios del MINSA - DIGEMID (2003) para productos naturales con fines terapéuticos solo el 23,7% contaba con Registro Sanitario, cuyo estudio fue contrastado por Valenzuela (2005) afirmando que casi uno de cada dos productos naturales comercializados cuenta con Registros Sanitarios que no son reconocidos por la DIGESA y/o DIGEMID, es decir, son autorizados por otras instituciones o laboratorios de su procedencia.

Esto implica que la mayoría de los productos naturales (56%) son comercializados sin control de calidad y sin garantizar la eficacia y eficiencia; y solo el 44% pasarían a integrar a la lista de Registrados en las instituciones oficiales DIGESA y DIGEMID. La asignación del Registro Sanitario en nuestro país según La Ley General de Salud y Resolución Jefatural N°116-99-J-OPD/INS que norman los criterios básicos para obtener el Número de Registro Sanitario por las instituciones oficialmente autorizadas, significa que para su aprobación y asignación del Registro Sanitario de un producto se tendrá que cumplir con los requisitos exigidos por las Normas Generales, siendo así, que el producto registrado es aquel que cumple con las validaciones farmacológicas, clínicas, así como, las especificaciones técnicas y el proyecto de rotulado del envase mediano e inmediato, detallados en Zavaleta (1999). Muchos de los productos de plantas medicinales antes de pasar al mercado están almacenadas bajo condiciones indeseables durante años y después existe la posibilidad que se mezclen unas con otras afectando así su bio-eficiencia indica Khatoon *et al.* (1993). Algunos productos herbarios contienen potenciales adulteraciones nocivas o una extensa cantidad de ingredientes variables que incrementan estas preocupaciones al consumidor, como lo señalan algunos autores como Ko (1998), Slifman *et al.* (1998), Cui *et al.* (1994), y Hussain *et al.* (2011); no obstante, la opinión extendida del público es que

los productos medicinales naturistas son inocuos, libres de efectos adversos y por lo tanto si su expectativa medicinal no es alcanzada, su consumo no se considera peligroso.

En un estudio realizado por Sánchez (2004), se obtuvo que el 93% de las muestras analizadas de medicamentos naturistas no cumplían con las normas microbiológicas para el recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables y mohos y levaduras que establece la OMS, de forma similar se obtuvo en el presente estudio que el 77,78 % de las muestras analizadas sobrepasaron el límite establecido por la Organización Mundial de la Salud para recuento de aerobios mesófilos viables y mohos y levaduras (ver **Tabla 2 y tabla 4**), 10^4 ufc/g y 100 ufp/g respectivamente. Esto nos indicaría una excesiva contaminación de los productos de medicina natural como también una deficiente manipulación durante el proceso de elaboración del producto y en consecuencia una gran posibilidad de encontrar microorganismos patógenos que puedan dañar la salud del consumidor de estos productos. Otro estudio realizado por Santos *et al.* (2013) indicaron que en las muestras de medicamentos naturistas analizadas se encontró que el 72,3 % presentaban contaminación fúngica y afirmaron que uno de los motivos sería la falta de las buenas prácticas agrícolas. Cabe resaltar que muchos de los

consumidores consideran que los productos herbarios son inocuos para la salud, sin embargo, la contaminación microbiana en medicamentos herbarios va en aumento, afectando principalmente a individuos inmunosuprimidos ya que los medicamentos herbarios frecuentemente contienen bacterias y hongos del suelo como los manifiesta Ernst (1999). Esto puede causar infecciones fúngicas u otras serias complicaciones de salud como consecuencia de acumulación de micotoxinas de productos fúngicos tales como *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus flavus* tal como lo indican Lutomski *et al.* (1980) y Candlish *et al.* (2001).

Los análisis microbiológicos realizados en este estudio indican que 7 de las 9 muestras analizadas correspondientes a Glucosamina, Riñosan, Higasan, Yacón, Alcachofa, Graviola y Noni (ver **Cuadro 2** y **Grafico 1**) mostraron contaminación por microorganismos aerobios mesófilos viables (RAMV). Representando el 77,78 % del total de las muestras. Mientras que en el estudio realizado por Kaume *et al.* (2012) halló que el 33 % de los productos medicinales a base de hierbas superaron los límites permisibles establecidos para aerobios mesofilos viables de acuerdo a la Farmacopea de Estados Unidos; y Montesdeoca (2010) en su estudio de comprimidos farmacéuticos de hierbas medicinales se encontraban dentro de los parámetros establecidos según

la O.M.S. Lo que nos da una idea que en otros países el control de calidad de estos productos es más estricto. Czech (2001) indicó que estas bacterias aerobias son comúnmente usadas como parámetros de calidad para evaluar el estado higiénico de los productos y muestras de drogas. Un factor para encontrar recuentos bacterianos elevados podría ser la humedad que presentan estos productos, tal como lo reportó Abba *et al.* (2009), quien indicó que en el 50 % de los productos herbarios analizados se encontró un alto contenido de humedad. Del mismo modo, los recuentos bacterianos bajos en las otras preparaciones podrían atribuirse a contenidos muy bajos de humedad, o de que hubo un mayor cuidado en la manipulación y envasado de estos productos, ya que se ha demostrado que el envasado a veces es manual, como lo sugiere Sanchez (2004), en su estudio sobre calidad microbiología de productos de medicina natural la cantidad de capsulas declarada en el envase no siempre corresponde a la encontrada en las muestras lo que hace suponer que la fabricación de estos productos fue hecha de manera artesanal, además informó que la mayoría de los laboratorios de los productos que se analizó no cumplían con los requerimientos necesarios para un producto terapéutico natural según el Decreto Supremo 004-2000-SA.

En el caso de Coliformes Totales (ver **Tabla 3**) se encontró que 2 de los 9 productos de medicina natural sobrepasaban el límite establecido

por la Organización Mundial de la Salud (1100 NMP/g), los cuales corresponden a los productos Alcachofa y Graviola, representando el 22,22 % del total de las muestras, cuyos resultados se visualizan en el (**Anexo 6**). Mientras que Kaume *et al.* (2012) halló que el 50 % de sus muestras analizadas superaron los límites permisibles de acuerdo a la Farmacopea de los Estados Unidos. Candlish *et al.* (2001) menciona que los Coliformes totales se encuentran principalmente en el suelo, vegetación y las superficies de animales de sangre caliente. Las plantas medicinales frecuentemente contienen microorganismos del suelo e insuficiencia sanitaria en cosechas y post cosechas la cual permite la supervivencia de microorganismos contaminantes, tal como indican Farkas (2000) y Candlish *et al.* (2001). Una elevada cantidad de Coliformes totales es un indicativo de pobre higiene y una carencia de medidas sanitarias. La contaminación resulta de una serie de fuentes, incluyendo una irregular limpieza en el procesamiento y en la ventilación de las muestras, como lo afirma Sharma (2001).

En el caso de contaminación por mohos y levaduras (ver **Tabla 4** y **Figura 2**) se encontró que siete de las nueve muestras analizadas correspondientes a Riñosan, Glucosamine, Quemador de grasa, Higasan, Yacón, Alcachofa y Graviola sobrepasaban el límite establecido por la

Organización Mundial de la Salud (no mayor a 100 ufp/g), representando 77,78 % del total de las muestras. Cuyos resultados se visualizan en el Anexo 7. La contaminación por mohos en productos herbarios puede ocurrir sobre todo durante el proceso de secado lento, a causa del insuficiente secado o el almacenamiento durante la post cosecha si la humedad relativa es elevada y la temperatura es favorable indica en su investigación Sharma (2001).

Las pruebas para la identificación de microorganismos específicos en las nueve muestras de productos naturales de la investigación, mostraron la ausencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* y *Pseudomonas aeruginosa* (ver **Tablas 5, 6 y 7** respectivamente), cumpliendo así en un 100 % lo establecido por la Organización Mundial de la Salud para productos medicinales herbales de uso oral y en las directrices para evaluar la calidad de las hierbas medicinales en relación con los contaminantes y residuos; para la determinación de microorganismos.

En la investigación realizada por Ratajczak *et al.* (2014) indicaron que los microorganismos contaminantes pueden reducir o eliminar el

efecto terapéutico del producto natural o causar infecciones inducidas por los mismos productos, pudiendo convertir a estos productos naturales en tóxicos. Por otra parte, Rashed *et al.* (2015) menciona que, a través de la descomposición microbiana en el medicamento, los constituyentes activos del fármaco pueden transformarse a formas menos potentes o químicamente inactivos, consecuencia de la contaminación por bacterias y hongos, cuya contaminación según Burt *et al.* (2014) ocurre a partir de la materia prima, el entorno de fabricación y manipulación, esto por la inexistencia de las Buenas Prácticas agrícolas y Buenas Prácticas de Manufactura y un proceso de fabricación validado, puesto que su control de calidad debe incluir ensayos de materias primas, ensayos en las pruebas en proceso, entre otros. Por ello la importancia de dicho estudio, para obtener datos de la calidad microbiológica de los productos naturales expendidos en las diversas casas naturistas de la ciudad de Tacna. Además, Burt *et al.* (2014) afirma que el control de calidad de los medicamentos a base de hierbas está destinado principalmente a definir la calidad de la base de hierbas y medicamento en lugar de establecer una caracterización completa.

V. CONCLUSIONES

PRIMERA

El 89% de los productos de medicina natural analizados expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna no cumplen con los parámetros de calidad microbiológica puesto que sobrepasaron el límite establecido por la OMS, en cuanto a los recuentos de Aerobios Mesófilos Viables, mohos y levaduras y numeración de Coliformes totales.

SEGUNDA

En el Recuento de Bacterias Mesófilos Viables, el 78% de los productos de medicina natural analizados sobrepasaron el límite establecido por la OMS (mayor a 10^4 ufc/g), considerándose no aptos para su consumo. Estos productos correspondieron a Glucosamine, Riñosan, Higasan, Yacón, Alcachofa, Graviola y Noni, mientras que el producto Moringa y Quemador de grasa estuvieron por debajo del límite permisible. Igualmente en el recuento de mohos y levaduras se determinó que siete de los

nueve productos analizados sobrepasaron el límite establecido por la OMS (no más a 100 ufp/g), siendo el 77,78 % de las muestras analizados no aptos. Estos correspondieron a los productos Riñosan, Glucosamine, Quemador de grasa, Higasan, Yacón, Alcachofa y Graviola, mientras que en los productos Noni y Moringa se encontraron cantidades por debajo del límite establecido.

TERCERA

Se determinó que en la Numeración de Coliformes Totales, dos de los nueve productos de medicina natural sobrepasaron el límite establecido por la Organización Mundial de la Salud (1100 NMP/gr), siendo el 22,22 % no aptos. Estos correspondieron a los productos Alcachofa y Graviola, esto podría indicar una probable contaminación fecal. Mientras que los productos Riñosan, Glucosamina, Quemador de grasa, Higasan, Yacón, Noni y Moringa se encontraron por debajo del límite establecido.

CUARTA

Se investigó la presencia de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación fecal, tales como *Salmonella*,

Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus*, determinando su ausencia en los productos de medicina natural cumpliendo con el límite establecido por la OMS, siendo el 100 % aptos de estos productos, debido a que se encontraron por debajo del límite establecido.

VI. RECOMENDACIONES

PRIMERA: Realizar un estudio de la carga microbiana fúngica existente en productos naturales, a nivel de especie, debido a la importancia en cuanto que su presencia podría implicar intoxicaciones por micotoxinas en los consumidores.

SEGUNDA: Se debe determinar la presencia y concentración de metales pesados presentes en los productos de medicina natural expedidos en Casa Naturistas de la en la ciudad de Tacna.

TERCERA: Se debe realizar un estudio sobre enfermedades relacionadas al consumo de productos de medicina natural.

CUARTA: Recomendar a las autoridades sanitarias pertinentes realizar un seguimiento continuo y permanente a las casas naturistas responsables en la elaboración y distribución de productos de medicina natiral para que así logren cumplir con la obtencion de un

Registro Sanitario y dar una mayor seguridad biológica a los consumidores de estos productos.

QUINTA: Realizar el estudio microbiológico y fisicoquímico de otros productos naturales similares, los cuales no se han podido analizar en el presente estudio.

VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Abba, D., Inabo, H., Yakubu, S., & Olonitola, O. (2009). *Contamination of herbal medicinal products marketed in Kaduna metropolis with selected pathogenic bacteria. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 6(1). 70-77.
- Adams, M. R., & Moss, M. O. (2008). *Bacterial agents of foodborne illness—Staphylococcus aureus*. Food Microbiology. Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Adeleye, I.A., Okogi, G. and Ojo, E.O., (2005). *Microbial contamination of herbal preparations in Lagos, Nigeria. J. Health, Population and Nutrition*, 23(3): 296-297.
- Álvarez, P. (2007). Decisiones en reacciones adversas a medicamentos, intoxicaciones y respuestas inesperadas de productos naturales como problema de salud pública. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 24(4), 405 - 426.

- Andrade, M., Martínez, L., Morales, P., Ortiz, G., Sandoval, H., & Zuluaga, G. (2005). Aproximación a la medicina tradicional Colombiana: Una mirada al margen de la cultura occidental. *Revista ciencias de la salud*, 3(1), 98-106.
- Burt, H., & Kroes. (2014). *The legal framework governing the quality of (traditional) herbal medicinal products in the European Union*. *Journal of Ethnopharmacology*, 158, 449453.
- Candlish A., Pearson S., Aidoo K., Smith J., Kelly B and Irvine H. (2001). *A survey of ethnic foods for microbial quality and aflatoxin content*. *Food Addit Contam.*; 18(2):129–136.
- Castillo, P. M. (1990). *La Medicina Tradicional en el Perú. Contribución a su Estudio*. Monografía para optar el título profesional de Químico-Farmacéutico. Universidad Católica de Santa María. Arequipa, Perú.
- Chan, K., (2003). *Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines*. *Chemosphere* 52, 1361–1371.

- Chang, R., (1995). Functional properties of edible mushrooms. *Nutrition Reviews* 54, 91–93.
- Cui, J., Garle, P. Eneroth and Björkhem I. (1994). *What do commercial ginseng preparations contain? Lancet*, 344:134.
- Czech, E., Kneifel, W. and Kopp, B. (2001). *Microbiological status of commercially available medicinal herbal drugs-screening study. Planta Med.*; 67:263-269.
- Dargan, P.I., Gawarammana, I.B., Archer, J.R.H., House, I.V., Shaw, D., Wood, D., (2008). Heavymetal poisoning from Ayurvedic traditionalmedicines: an emerging problem? *International Journal of Environmental Health* 2, 463–472.
- Domínguez T., (1997). *Uña de Gato y Producción Sostenible*. Editorial Publifor. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

- Domínguez T., Tapia y Figueroa, L. (1995). Uña de gato: situación actual y avances en la investigación. *Revista Agro enfoque*. año xi. Lima, Perú
- Dubey, N., Kumar, A., Priyanka, S. and Ravindra, S. (2008). *Microbial contamination of raw materials: A major reason for the decline of India's share in the global herbal market*. *Current Sci.*, 95(6): 25.
- Estrella, E., Soulé, M. E., Witt, S. C., Schultes, R. E., Perry Jr, J. P., Vargas, C., & C Fries, A. M. (1995). *Plantas medicinales amazónicas: realidad y perspectivas* (No. F40-12). TCA UNDP IDE FAO UNAMAZ DGIS.
- Ernst, E. (1999). *Is it effective and safe? Complementary medicine*. *Drug Inf. J.*33:291–295.
- Farkas, J. (2000). *The microbiological safety and quality of food Spices and herbs*. Gaithersburg, MD, p. 897–918.

- Farnaz M., Shahzad H. and Sidra M. (2014). *Appraisal of medicinal plants used in alternative systems of Medicines for microbial contamination, physiochemical Parameters and heavy metals. Pak. J. Bot.*, 46(2): 645-658.
- Forest, J. (2004). *Fecal Coliforms*. University of Iowa Hygienic Laboratory Manual. 36:2-4.
- García, A., Avila, Y., Alonso, L., López, P., Ruiz, K., Morón, F. (2009). Reacciones adversas reportadas por consumo de productos naturales en Cuba durante 2003 y 2007. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 14(1), 0-0.
- Gonzales I. (2006). *Atención Farmacéutica en Fitoterapia*. [monografía en línea]. Valencia: Colegio Oficial de Farmacéuticos de Valencia]. Disponible en:
<http://www.redfarmaceutica.com/formacion/pdf/affitoterapia.pdf>
- Haider, S., Naithani, V., Barthwal, J., Kakkar, P., (2004). Heavy metal content in some therapeutically important medicinal plants.

Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 72, 119–127.

- Hussain, J., Khan, F., Ullah R., Muhammad Z., Rehman N., Shinwari Z., Khan I., Zohaib M., Din I. and Hussain S. (2011). *Nutrient evaluation and elemental analysis of four selected medicinal plants of Khyber Pakhtoon Khwa, Pakistan. Pak. J. Bot.*, 43(1): 427-434.
- ICMSF, *International Commission Microbiological Specifications for Food*. (2000). *Microorganismos de los Alimentos. Técnicas de Análisis Microbiológico. Volumen 1*. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Jay, J. M. (2012). 5^{ta} edición. *Modern Food Microbiology*. Springer. Science & Business Media [Recurs Electrònic]. ISBN: 978-1-4615-7476-7.
- Kaume, L., Foote, J. C., & Gbur, E. E. (2012). Microbial contamination of herbs marketed to HIV-infected people in Nairobi (Kenya). *South African Journal of Science*, 108(9-10), 1-4.

- Khatoon, S., S. Mehrotra, U. Shome and B.N. Mehrotra. (1993). *Analysis of commercial 'Ratanjot; by TLC fluorescence fingerprinting, Int. J. Pharmacol., 31: 269-277.*
- Kneifel, W., Czech, E. and Kopp, B. (2002). *Microbial contamination of medicinal plants. Planta Med.; 68:5–15.*
- Ko, R. (1998). *Adulterants in Asian patent medicines. N. Engl. J. Med., 339: 847.*
- Lutomski, J. and Kedzia, B. (1980). *Mycoflora of crude drugs: Estimation of mould contaminations and their toxicity. Planta Med.; 40:212–217.*
- Madigan, M., Martinko, J., Packer, J. (2012). *Brock: Biología de los Microorganismos, 12^{va} Edición. Prentice Hall.Madrid, España.*
- MERCK. (2014). *Manual de Medios de Cultivo Alemania Control de Calidad. Volumen I, Serio de documentos N° 03.*

- MINISTERIO DE SALUD. (1996) *Diseño e Interpretación de Pruebas Farmacológicas en Control de Calidad*. Instituto Nacional de Salud- Centro Nacional de Control de Calidad. Volumen II, Serie de documentos N° 03. Lima – Perú.
- MINISTERIO DE SALUD - DIGEMID (2003). *Dirección de Registros*. Registros Sanitarios Autorizados de Productos Naturales Nacionales y Extranjeros Vigentes. Lima - Perú.
- MINISTERIO DE SALUD. (2000). *Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Galénicos y Recursos Terapéuticos Naturales*. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID). Lima, Perú.
- MINISTERIO DE SALUD. (1999). *Registro y Control de Calidad de Recursos y Productos Naturales de Uso en Salud*. Instituto Nacional de Salud. Centro Nacional de Control de Calidad. Serie de documentos N°09.Lima –Perú.
- Montesdeoca, V. (2010). *Elaboración y control de calidad de comprimidos Fitofarmacéuticos de ajeno (Artemisia absinthium)*,

romero (*Rosmarinus officinalis*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) para combatir la menstruación dolorosa. Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba- Ecuador. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/391/1/56T00202.pdf>.

- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. (2009). *Promoción y desarrollo de la medicina tradicional*. Consejo ejecutivo de Medicina tradicional 124^{va} Reunión. Ginebra/Alma Ata URSS: OMS.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. (2008). Nota descriptiva de N° 134 sobre Medicina Tradicional. Ginebra.
- Nadeem, M., Z.K. Shinwari and M. Qaisar. (2013). *Screening of Folk remedies by genus Artemisia based on ethnomedicinal surveys and traditional knowledge of native communities of Pakistan*. *Pak. J. Bot.*, 45(S1): 111-117.
- Rashed, N., Nagma, Z., & Kamal, K. D. (2015). Microbiological quality of pharmaceutical products in Bangladesh: current research

perspective. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(5), 264-270

- Ratajczak, M., Kubicka, M. M., Kaminska, D., & Sawicka, P. (2014). Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical products. *Saudi Pharmaceutical Journal*, xxx–xxx.
- Romero, O., Reyes, I., Torija, A., Herrera, J. (2005). *Conocimiento sobre fitofarmacos en médicos de atención primaria del estado de Morelos*. *Rev Med IMSS*. 43(4):281-286.
- Sanchez P. L. (2004) *Calidad microbiológica de productos naturales de uso en salud, expendidos en casas naturistas en la ciudad de Tacna*. Tacna – Perú.
- Santos, R. L., Nobre, M. S. D. C., Guimarães, G. P., Dantas, T. B., Vieira, K. V. M., Felismino, D. D. C., & Dantas, I. C. (2013). Contaminação fúngica de plantas medicinais utilizadas em chás. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 34(2), 289-293.

- Shaikh, H., Shahzad, Farnaz M., James H. y Abdul H. (2009). *Trends in the use of complementary and alternative medicines: A population based survey. Alter Compl Meds.* 15(5): 545-550.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos* (No. 78). Convenio Andrés Bello.
- Sharma, A. (2001). *Irradiation to decontaminate herbs and spices. Handbook of herbs and spices.* Cambridge, UK: Woodhead Publishing; p. 60–73.
- Shinwari, Z. and Qaisar M. (2011). *Efforts on conservation and sustainable use of medicinal plants of Pakistan. Pak. J. Bot.,* 43 (Special Issue): 5-10.
- Shinwari, Z.K., Saleema, M., Faisal, R., Huda, S. and Asrar M. (2013). *Biological screening of indigenous knowledge based plants used in diarrheal treatment. Pak. J. Bot.,* 45(4): 1375-1382.

- Slifman, N., Obermeyer W. and Aloi, B. (1998). *Contamination of botanical dietary supplements by Digitalis lanata*. *N. Engl. J. Med.*, 339: 806-11.
- Street, R.A. (2012). Heavy metals in medicinal plant products an African perspective. *South African Journal of Botany* 82, 67-74.
- Torres, M. (2006). *Análisis microbiológico de materias primas utilizadas en la elaboración de productos naturales en una industria colombiana*. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C.
- Valenzuela, F. O. (2005). *Comercialización de los productos naturales en Lima, Metropolitana*. Lima: INS.
- Vila, G. (2009). *Análisis del uso de plantas medicinales en mercados de abastos del distrito de Ventanilla-Callao, 2007*.
- WHO, World Health Organization (1998). *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva, World Health Organization.

- WHO, World Health Organization. (2008). *Traditional Medicine*. Fact sheet no. 134.
- Zavaleta, A., 1999. *Control de calidad de productos naturales de uso en salud en el Perú..* En: Registro y control de calidad de recursos y productos naturales de uso en salud.. Lima: INS, pp. 33 – 34.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Medicamentos naturistas analizados microbiológicamente y expendidos en la ciudad de Tacna (Riñosan, Moringa, Glucosamine, Quemador de grasa, Higasan, Yacón, Alcachofa, Graviola, Noni).



Anexo 2. Pesado de muestras y preparación de las diluciones de los productos naturales expendidos en casas naturistas de la ciudad de Tacna.



Anexo 3. Preparación de las diluciones seriales de las muestras de productos naturales analizados y expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna.



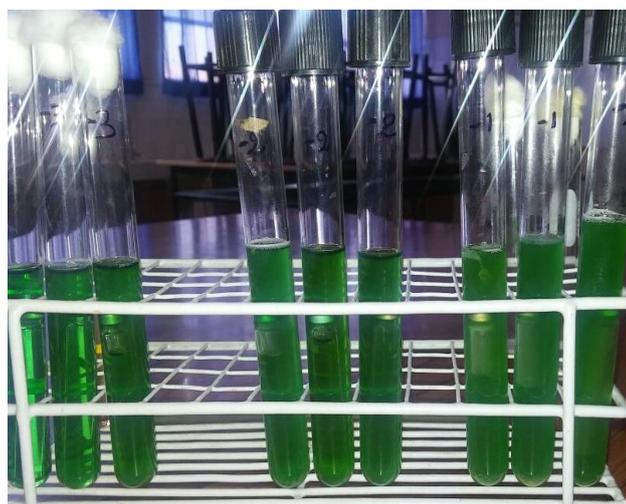
Anexo 4. Inoculación en caldo Verde Brillante Bilis de las diluciones seriales de las muestras de productos naturales expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna.



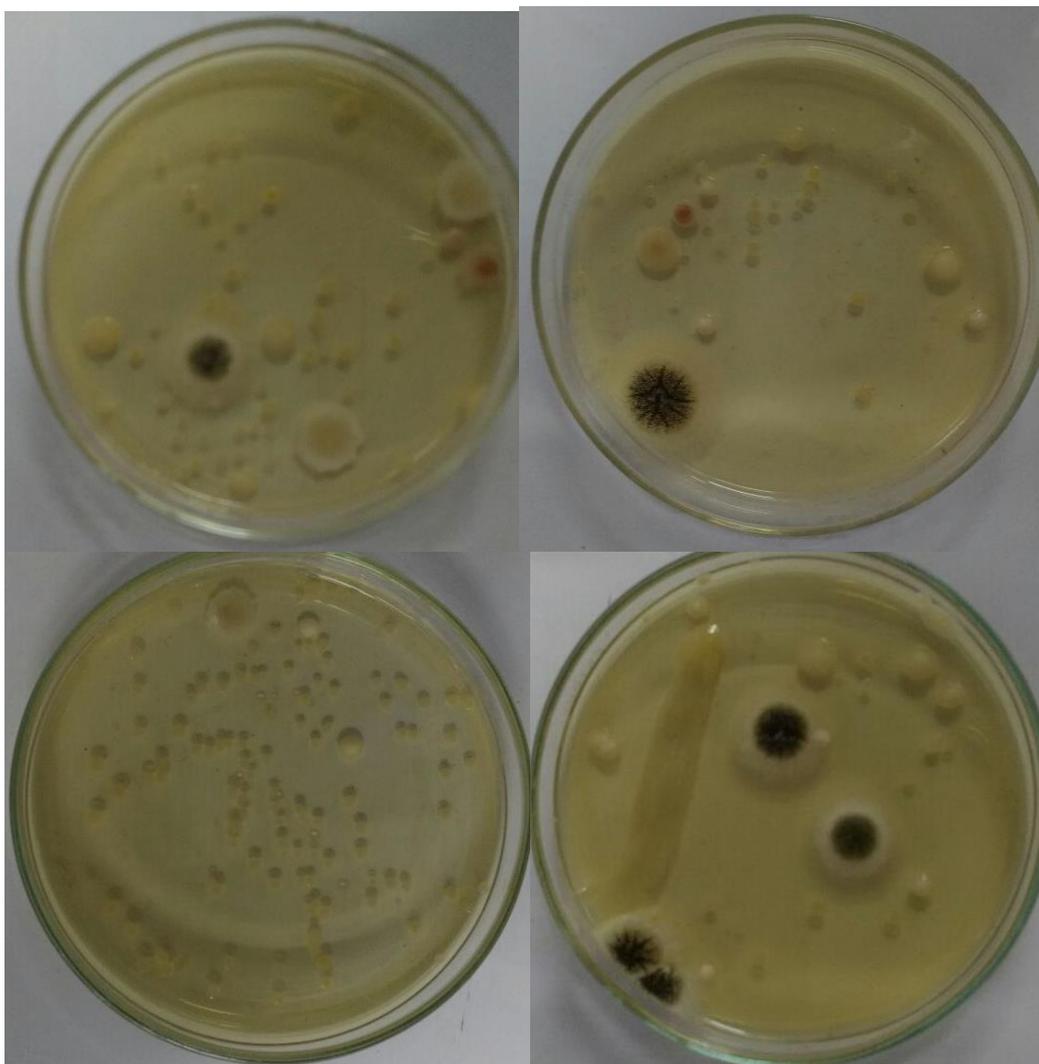
Anexo 5. Siembra en Agar Saboraud de las diluciones seriales de las muestras de productos naturales expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna.



Anexo 6. Resultados de Numeración de Coliformes Totales de las muestras de productos naturales expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna.



Anexo 7. Resultados del Recuento de Mohos y Levaduras de las muestras de productos naturales expendidos en las casas naturistas de la ciudad de Tacna.

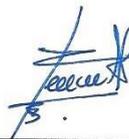


Anexo 8. Límites microbiológicos recomendados para productos terapéuticos naturales de uso oral, por la Organización Mundial de la Salud.

AGENTE BIOLÓGICO	REQUISITOS OMS
	FORMAS ORALES
Bacterias aerobias	No más de 10,000
Hongos por 1 g ó 1 ml	No más de 100
<i>Salmonella sp</i> en 10 g ó 10 ml	Ausencia
<i>Escherichia coli</i> en 1 g ó 1 ml	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g ó 1 ml	Ausencia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g ó 1 ml	Ausencia



Dr. César Julio Cáceda Quiroz
Asesor



Bach. Zulma Rosalía Calderón Carazas
Tesisista