

"2021, Año de la Independencia"

COMENTARIOS

Con fundamento en el numeral 6.3.3.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2020, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de mayo y hasta el 30 de junio de 2021, lo analicen, evalúen y envíen sus observaciones o comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante la CPFEUM, sito en Río Rhin número 57, colonia Cuauhtémoc, código postal 06500, Ciudad de México.

Correo electrónico: consultas@farmacopea.org.mx.

DATOS DEL PROMOVENTE

Nombre: _____
Institución o empresa: _____
Teléfono: _____

Cargo: _____
Dirección: _____
Correo electrónico: _____

EL TEXTO EN COLOR ROJO HA SIDO MODIFICADO

Dice	Debe decir	Justificación*
MGA-FH 0170. LÍMITES MICROBIANOS		
Estas pruebas tienen como objetivo evaluar la calidad microbiológica de plantas medicinales, mediante el recuento de organismos mesofílicos aerobios, hongos filamentosos y levaduras; así como la investigación de microorganismos específicos.		
El material procedente de plantas medicinales tiene normalmente un gran número de bacterias y hongos filamentosos, con frecuencia provenientes del suelo. De entre la gran variedad de microorganismos provenientes de la microflora propia de las plantas, predominan las bacterias aerobias y anaerobias formadoras de esporas.		
Las principales fuentes de contaminación microbiana son: la materia fecal humana o animal utilizada como abono, el agua de irrigación y/o agua de proceso contaminada y los malos hábitos de higiene y desinfección de los trabajadores durante la cosecha, clasificación, proceso, empaquetado y transporte.		
Se han ido restringiendo los métodos de descontaminación, por ejemplo, en la Unión Europea, se ha prohibido el uso de óxido de etileno. En algunos países los tratamientos con		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
radiación ionizante también se han restringido o requieren de permisos especiales.		
RECOMENDACIONES GENERALES. Las muestras deben trabajarse bajo condiciones asépticas. Se debe evitar afectar a los microorganismos contaminantes de los productos de prueba.		
El tiempo transcurrido desde la preparación de la primera dilución hasta su incorporación con el medio de cultivo no debe exceder de 1 h.		
PREPARACIÓN DE LA MUESTRA		
Dependiendo de las características físicas del material a examinar debe: molerse, disolverse, diluirse, suspenderse, o emulsificarse usando un método apropiado. Para suspender o diluir el material de prueba, utilizar solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2, solución amortiguadora de cloruro de sodio-peptona pH 7.0 o medio líquido. Si el material de prueba tiene actividad antimicrobiana o contiene sustancias antimicrobianas (materiales con alto contenido de taninos o aceites esenciales), se deben eliminar por dilución, neutralización o filtración hasta donde sea posible. Si se usan sustancias tensoactivas para preparar la muestra, se debe demostrar la ausencia de toxicidad para los microorganismos y su compatibilidad con los neutralizantes utilizados.		
<i>Materiales solubles en agua.</i> A menos que se indique otra cosa en la monografía correspondiente, disolver o diluir 10 g o 10 mL del material vegetal, en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2, solución amortiguadora de cloruro de sodio-peptona pH 7.0, caldo lactosado u otro medio adecuado que haya demostrado no tener actividad antimicrobiana en las condiciones de la prueba. Ajustar el volumen a 100 mL con la misma solución o medio (algunos materiales pueden requerir un mayor volumen, conservando una proporción 1 en 10). Si es necesario, ajustar el pH de la suspensión a aproximadamente 7. Cuando se requiera preparar más diluciones, utilizar el mismo diluyente.		
<i>Materiales no grasos insolubles en agua.</i> Suspender 10 g o 10 mL de material, a menos que se indique otra cosa en la		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>monografía correspondiente en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2, solución amortiguadora de cloruro de sodio-peptona pH 7-9, caldo lactosado u otro medio adecuado que haya demostrado no tener actividad antimicrobiana en las condiciones de la prueba. Ajustar el volumen a 100 mL con la misma solución o medio (algunos materiales pueden requerir un mayor volumen, conservando una proporción 1 en 10). Si es necesario, dividir el material a examinar y homogeneizar la suspensión mecánicamente. Puede adicionarse algún agente tensoactivo como por ejemplo una solución de 1 mg/mL de polisorbato 80. Si es necesario, ajustar el pH de la suspensión, a aproximadamente 7. Cuando se requiera preparar más diluciones, utilizar el mismo diluyente.</p>		
<p><i>Materiales grasos.</i> Homogeneizar 10 g o 10 mL del material en cuestión, a menos que se indique otra cosa en la monografía correspondiente, con 5 g de polisorbato 20 u 80. Calentar a no más de 40°C si es necesario. (Ocasionalmente puede requerirse calentar a 45°C por el menor tiempo posible). Mezclar cuidadosamente manteniendo la temperatura con un baño de agua u horno. Añadir 85 mL de solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2, solución amortiguadora de cloruro de sodio-peptona pH 7-9, caldo lactosado u otro medio adecuado que haya demostrado no tener actividad antimicrobiana en las condiciones de la prueba, a no más de 40°C. Mantener esta temperatura el menor tiempo posible hasta formar una emulsión, en ningún caso por más de 30 min. Si es necesario, ajustar el pH de la suspensión a aproximadamente 7. Cuando se requiera preparar más diluciones, utilizar el mismo diluyente.</p>		
<p>PROCEDIMIENTOS DE PRUEBA</p>		
<ul style="list-style-type: none"> • Recuento microbiano 		
<ul style="list-style-type: none"> • Recuento en placa 		
<ul style="list-style-type: none"> • Filtración por membrana 		
<ul style="list-style-type: none"> • Número más probable (NMP) 		
<p>La elección del método se basa en la naturaleza del material y las especificaciones específicas establecidas de acuerdo para a cada material, el método elegido debe</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>permitir probar la cantidad de muestra suficiente para juzgar el cumplimiento de las especificaciones.</p>		
<p>Recuento en placa</p>		
<p><i>Para bacterias.</i> Usar cajas Petri de 9 cm a 10 cm de diámetro. Efectuar la prueba por duplicado. A partir del material preparado como se indicó en "Preparación de la muestra", tomar una alícuota de 1 mL, depositar en una caja de Petri estéril, adicionar de 15 mL a 20 mL de agar soya tripticaseína (fundido y mantenido en baño de agua a una temperatura no mayor de 45 °C), mezclar, dejar solidificar e incubar entre 30°C y 35 °C durante 48 a 72 horas. Contar el número de UFC y expresar el promedio de las dos placas en términos del número de UFC por gramo o mililitro de la muestra. En caso de no recuperar colonias en las placas, que representan la dilución inicial 1:10 de la muestra, expresar los resultados como "menor a 10 UFC por gramo o mililitro".</p>		
<p>Si el número de UFC es incontable, repetir el análisis efectuando las diluciones necesarias y seleccionar para el recuento aquellas placas que muestren entre 30 y 300 UFC.</p>		
<p><i>Para hongos.</i> Usar cajas Petri de 9 a 10 cm de diámetro. Efectuar la prueba por duplicado. A partir del material preparado como se indicó en "Preparación de la muestra", tomar una alícuota de 1 mL, depositar en una caja de Petri estéril, adicionar de 15 mL a 20 mL de agar dextrosa Sabouraud con antibióticos (fundido y mantenido en baño de agua a una temperatura no mayor de 45 °C), mezclar, dejar solidificar e incubar entre 20°C a 25°C durante 5 días. Contar el número de UFC y expresar el promedio de las dos placas en términos del número de UFC por gramo o mililitro de la muestra. En caso de no recuperar colonias en las placas, que representan la dilución inicial 1:10 de la muestra, expresar los resultados como "menor a 10 UFC por gramo o mililitro". Si el número de UFC es incontable, repetir el análisis efectuando las diluciones necesarias y seleccionar para el recuento aquellas placas que muestren no más de 100 UFC.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
Filtración por membrana		
<p>Usar filtros de membrana con un tamaño de poro no mayor de 0.45 µm, y cuya efectividad para la retención de bacterias haya sido establecida. Por ejemplo, usar filtros de nitrato de celulosa para soluciones acuosas, aceitosas oleosas y ligeramente alcohólicas, y filtros de acetato de celulosa para soluciones fuertemente alcohólicas. La técnica descrita utiliza filtros en disco de alrededor de 50 mm de diámetro. Para filtros de diámetro diferente, ajustar los volúmenes de las soluciones y lavados en forma correspondiente.</p>		
<p>En condiciones asépticas, transferir la cantidad adecuada de muestra preparada como se describe en "Preparación de la muestra" que represente 1 g del material a cada uno de dos filtros de membrana y filtrar inmediatamente. Si es necesario, diluir el material preparado para obtener una cuenta de colonias de 10 a 100. Enjuagar cada membrana, filtrando 3 o más cantidades sucesivas de aproximadamente 100 mL de solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 o solución amortiguadora de cloruro de sodio-peptona pH 7.0. Para materiales grasos puede adicionarse un tensoactivo como polisorbato 20 u 80. Con pinzas estériles transferir cuidadosamente una de las membranas a la superficie de una placa con agar soya tripticaseína para el recuento de bacterias, transferir la segunda membrana a una placa de agar dextrosa Sabouraud con antibiótico para el recuento de hongos. Incubar las placas durante 5 días entre 30°C a 35°C para bacterias y de 20°C a 25°C para el recuento de hongos.</p>		
<p>Contar el número de UFC formadas. Si es necesario contar las bacterias y los hongos por separado. Calcular el número de microorganismos por gramo o mililitro del material analizado.</p>		
Número más probable		
<p>Preparar una serie de 12 tubos que contengan 9 mL de caldo soya tripticaseína. Adicionar a los tres primeros tubos 1 mL de la dilución 1:10 del material disuelto, homogeneizado y preparado como se describió en "Preparación de la muestra".</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*																																																															
<p>A los siguientes tres tubos añadir 1 mL de una dilución 1:100 del material y a otros tres tubos añadir 1 mL de una dilución 1:1 000 del material. Añadir 1 mL del diluyente a los últimos tres tubos como controles negativos. Incubar los tubos de 30°C a 35°C durante al menos 5 días. No debe haber desarrollo microbiano en los tubos controles. Si se dificulta la lectura de los resultados o es incierta debido a la naturaleza del material, preparar un subcultivo en un medio líquido o sólido y evaluar los resultados después de un periodo mayor de incubación. Determinar el número más probable de microorganismos por gramo o mililitro del material mediante la tabla 0170.1.</p>																																																																	
<p><i>Tabla 0170.1. Número más probable de microorganismos.</i></p>																																																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">Número de tubos con crecimiento microbiano</th> <th rowspan="2">Número más probable de microorganismos por gramo o mililitro</th> </tr> <tr> <th>100 mg o 0.1 mL por tubo (1:10)</th> <th>10 mg o 0.01 mL por tubo (1:100)</th> <th>1 mg o 0.001 mL por tubo (1:1 000)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>3</td><td>3</td><td>3</td><td>>1 100</td></tr> <tr><td>3</td><td>3</td><td>2</td><td>1 100</td></tr> <tr><td>3</td><td>3</td><td>1</td><td>500</td></tr> <tr><td>3</td><td>3</td><td>0</td><td>200</td></tr> <tr><td>3</td><td>2</td><td>3</td><td>290</td></tr> <tr><td>3</td><td>2</td><td>2</td><td>210</td></tr> <tr><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>150</td></tr> <tr><td>3</td><td>2</td><td>0</td><td>90</td></tr> <tr><td>3</td><td>1</td><td>3</td><td>160</td></tr> <tr><td>3</td><td>1</td><td>2</td><td>120</td></tr> <tr><td>3</td><td>1</td><td>1</td><td>70</td></tr> <tr><td>3</td><td>1</td><td>0</td><td>40</td></tr> <tr><td>3</td><td>0</td><td>3</td><td>95</td></tr> <tr><td>3</td><td>0</td><td>2</td><td>60</td></tr> </tbody> </table>	Número de tubos con crecimiento microbiano			Número más probable de microorganismos por gramo o mililitro	100 mg o 0.1 mL por tubo (1:10)	10 mg o 0.01 mL por tubo (1:100)	1 mg o 0.001 mL por tubo (1:1 000)	3	3	3	>1 100	3	3	2	1 100	3	3	1	500	3	3	0	200	3	2	3	290	3	2	2	210	3	2	1	150	3	2	0	90	3	1	3	160	3	1	2	120	3	1	1	70	3	1	0	40	3	0	3	95	3	0	2	60		
Número de tubos con crecimiento microbiano			Número más probable de microorganismos por gramo o mililitro																																																														
100 mg o 0.1 mL por tubo (1:10)	10 mg o 0.01 mL por tubo (1:100)	1 mg o 0.001 mL por tubo (1:1 000)																																																															
3	3	3	>1 100																																																														
3	3	2	1 100																																																														
3	3	1	500																																																														
3	3	0	200																																																														
3	2	3	290																																																														
3	2	2	210																																																														
3	2	1	150																																																														
3	2	0	90																																																														
3	1	3	160																																																														
3	1	2	120																																																														
3	1	1	70																																																														
3	1	0	40																																																														
3	0	3	95																																																														
3	0	2	60																																																														

"2021, Año de la Independencia"

Dice				Debe decir	Justificación*
3	0	1	40		
3	0	0	23		
Si el número de tubos que muestran crecimiento microbiano para la primera columna son dos o menos, el número más probable de microorganismos por gramo o por mililitro es menor de 100.					
Efectividad de los medios de cultivo y validez del método de recuento					
Normalmente se usan las siguientes cepas:					
<i>Staphylococcus aureus</i> * ATCC 6538-P, ATCC 6538					
<i>Bacillus subtilis</i> * ATCC 6633					
<i>Escherichia coli</i> * ATCC 8739					
<i>Candida albicans</i> * ATCC 2091					
* Pueden emplearse las cepas equivalentes de NCTC, CIP, NCIMB, NCPF, IFO.					
Permitir a los microorganismos de referencia desarrollarse por separado en tubos que contengan caldo soya tripticaseína, de 30°C a 35°C durante 18 h a 24 h, excepto para <i>Candida albicans</i> que necesita una temperatura de 20°C a 25°C durante 48 h.					
Diluir porciones de los cultivos usando solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 o solución amortiguadora de cloruro de sodio-peptona pH 7.0 para obtener suspensiones de microorganismos de referencia que contengan alrededor de 50 a 200 microorganismos viables por mililitro. Evaluar la propiedad de promoción de crecimiento de cada medio inoculando 1 mL de cada microorganismo. La prueba es satisfactoria si evidencia clara de crecimiento aparece en los medios inoculados después de incubar a la temperatura indicada por 5 días.					
Para confirmar la esterilidad del medio y del diluyente, así como el manejo aséptico, realizar un recuento total de aerobios viables usando solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 o solución amortiguadora de cloruro de sodio-peptona pH 7.0 estéril como preparación de prueba. No debe haber					

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
crecimiento de microorganismos.		
Para validar el método, debe obtenerse una cuenta del microorganismo de prueba que no difiera por más de un factor de 10 del valor calculado para el inóculo.		
Prueba para microorganismos específicos		
Determinación de enterobacterias y otras bacterias gram negativas.		
<i>Evaluación cualitativa.</i> Homogeneizar apropiadamente el material como se describe en "Preparación de la muestra" empleando caldo lactosado e incubarlo de 30°C a 37°C por el tiempo suficiente para reactivar a las bacterias, pero no tanto que permita su multiplicación (usualmente de 2 h a 5 h). Agitar el recipiente, transferir el equivalente a 1 g o 1 mL del material homogeneizado a 100 mL de caldo Mossel de enriquecimiento de enterobacterias e incubar de 30°C a 37°C durante 18 h a 48 h. Preparar un subcultivo en una placa con agar glucosa rojo violeta bilis. Incubar de 35°C a 37°C durante 18 h a 48 h. El material pasa la prueba si no hay desarrollo de colonias de bacterias Gram negativas en la placa.		
<i>Evaluación cuantitativa.</i> Inocular una cantidad adecuada de caldo Mossel de enriquecimiento para enterobacterias con cantidades de material preparado como se describió en "Evaluación cualitativa", diluidas de tal forma que contengan 1.0 g, 0.1 g y 0.01 g o 1.0 mL, 0.1 mL y 0.01 mL del material a examinar. Incubar de 35°C a 37°C durante 24 h a 48 h. Preparar un subcultivo de cada dilución en una placa con agar glucosa rojo-violeta bilis para tener un aislamiento selectivo. Incubar de 35°C a 37°C durante 18 h a 24 h. El desarrollo de colonias bien definidas, generalmente rojas o rojizas, de bacterias Gram negativas indica un resultado positivo. Identificar la menor dilución que da positiva la prueba y determinar el número más probable de bacterias mediante la tabla 0170.2.		
<i>Tabla 0170.2.</i> Determinación de enterobacterias y otras bacterias gram negativas.		

"2021, Año de la Independencia"

Dice				Debe decir	Justificación*
Resultado para cada cantidad o volumen			Número más probable de bacterias por gramo o mililitro de material		
1.0 g o 1.0 mL	0.1 g o 0.1 mL	0.01 g o 0.01 mL			
+	+	+	Más de 10 ²		
+	+	-	Menos de 10 ² pero más de 10		
+	-	-	Menos de 10 pero más de 1		
-	-	-	Menos de 1		
Escherichia coli					
Homogeneizar el material preparado como se describió en "Evaluación cualitativa" y transferir el equivalente a 1 g o 1 mL, a 100 mL de caldo MacConkey e incubar de 43°C a 45°C durante 18 h a 24 h.					
Preparar un subcultivo en una placa con agar MacConkey e incubar de 43°C a 45°C durante 18 h a 24 h. El desarrollo de colonias rojas, generalmente no mucoides, de bacilos Gram negativos, algunas veces rodeadas por una zona de precipitado rojizo, indica la posible presencia de <i>E. coli</i> que se confirma por la formación de indol de 43.5°C a 44.5°C y/o por otras reacciones bioquímicas. El material pasa la prueba si las colonias no presentan las características indicadas o si las pruebas confirmatorias son negativas.					
Salmonella spp					
Incubar la solución, suspensión o emulsión del material preparado en caldo lactosado como se describió en "Evaluación cualitativa" de 35°C a 37°C durante 5 h a 24 h, para su enriquecimiento.					
<i>Prueba presuntiva.</i> Pasar 10 mL del cultivo enriquecido a 100 mL de caldo tetrionato bilis verde brillante e incubar de 42°C a 43°C durante 18 h a 24 h. Preparar subcultivos en al menos dos de los siguientes medios de cultivo: agar citrato-desoxicolato, agar xilosa lisina desoxicolato y agar verde					

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*								
brillante. Incubar de 35°C a 37°C C durante 24 h a 48 h. Realizar la prueba confirmatoria para las colonias que cumplan la descripción de la tabla 0170.3.										
<i>Tabla 0170.3. Características de las colonias de Salmonella en diferentes medios de cultivo.</i>										
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Medio</th> <th>Descripción de la morfología colonial</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Agar citrato desoxicolato</td> <td>Bien desarrolladas e incoloras.</td> </tr> <tr> <td>Agar xilosa lisina desoxicolato</td> <td>Bien desarrolladas, rojas con o sin centros negros.</td> </tr> <tr> <td>Agar verde brillante</td> <td>Pequeñas, transparentes e incoloras u opacas, rosas o blancas (frecuentemente rodeadas por una zona rosa o roja)</td> </tr> </tbody> </table>	Medio	Descripción de la morfología colonial	Agar citrato desoxicolato	Bien desarrolladas e incoloras.	Agar xilosa lisina desoxicolato	Bien desarrolladas, rojas con o sin centros negros.	Agar verde brillante	Pequeñas, transparentes e incoloras u opacas, rosas o blancas (frecuentemente rodeadas por una zona rosa o roja)		
Medio	Descripción de la morfología colonial									
Agar citrato desoxicolato	Bien desarrolladas e incoloras.									
Agar xilosa lisina desoxicolato	Bien desarrolladas, rojas con o sin centros negros.									
Agar verde brillante	Pequeñas, transparentes e incoloras u opacas, rosas o blancas (frecuentemente rodeadas por una zona rosa o roja)									
<i>Prueba confirmatoria.</i> A partir de una sola colonia que cumpla las características de la tabla 0170.3, sembrar en tubos que contienen agar hierro triple azúcar, inoculando en la superficie y el fondo, incubar de 35°C a 37°C durante 18 h a 24 h. La prueba es positiva para la presencia de <i>Salmonella</i> spp. si se observa un cambio de color de rojo a amarillo en la parte profunda del cultivo, pero no en la superficie, usualmente acompañado por la formación de gas con o sin producción de ácido sulfhídrico. La confirmación de la presencia de <i>Salmonella</i> spp. debe realizarse con pruebas bioquímicas y pruebas serológicas.										
El material examinado pasa la prueba si no aparecen colonias como las descritas en la prueba presuntiva o si las pruebas bioquímicas y serológicas de la prueba confirmatoria son negativas.										
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>										
Preparar el material a examinar como se describió en "Preparación de la muestra", usar solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 o solución amortiguadora de cloruro de sodio-peptona pH 7.0. Inocular 100 mL de caldo soya tripti-caseína										

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>con una alícuota de la solución, suspensión o emulsión que contenga 1.0 g o 1.0 mL del material a examinar. Mezclar e incubar de 35°C a 37°C durante 24 h a 48 h. Preparar un subcultivo en una placa con agar cetrimida e incubar de 35°C a 37°C durante 24 h a 48 h. El material pasa la prueba si no se observa crecimiento de microorganismos. Si aparecen colonias con fluorescencia verde formadas por bacilos Gram negativos, realizar la prueba de oxidasa y probar el crecimiento a 42°C en caldo soya tripticaseína. Puede realizarse el siguiente método: colocar de 2 a 3 gotas de una solución, recién preparada, de diclorhidrato de <i>N,N,N',N'</i>-tetrametil-<i>p</i>-fenilendiamina 0.01 g/mL en un papel filtro y depositar con el asa una pequeña cantidad de la colonia sospechosa, la prueba es positiva si se desarrolla un color púrpura entre los primeros 5 s y 10 s a 10 s. El material pasa la prueba si no se observan colonias del tipo descrito o si las pruebas bioquímicas son negativas.</p>		
<p><i>Staphylococcus aureus</i></p>		
<p>Preparar un cultivo enriquecido en caldo soya tripticaseína, como se indicó para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>. A partir del cultivo obtenido sembrar dos placas con agar Baird-Parker. Incubar de 35°C a 37°C durante 24 h a 48 h. El material pasa la prueba si no se observa crecimiento. La presencia de colonias negras rodeadas de una zona clara, catalasa positiva, formadas por cocos Gram positivos agrupados en racimos, indica la posible presencia de <i>S. aureus</i>. Confirmar mediante la prueba de coagulasa. El material pasa la prueba si no aparecen colonias del tipo descrito o si las pruebas bioquímicas confirmatorias son negativas.</p>		
<p><i>Clostridium spp</i></p>		
<p>Adicionar 10 g o 10 mL del material a ser analizado en dos frascos conteniendo 100 mL del medio de carne cocida, calentar justo antes usar a 100 °C por unos minutos y enfriar a 37°C. Inmediatamente después de este tratamiento sellar un frasco con una capa de parafina estéril o agar, Calentar el otro frasco a 65°C durante 30 min y sellar de manera similar al otro frasco.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Incubar ambos frascos de 35 a 37°C y examinar cada 24 h durante 4 días. Crecimiento de microorganismos formadores de esporas ocurre en el frasco al cual se sometió a calentamiento después de la inoculación. El material pasa la prueba si no se observa crecimiento de microorganismos.</p>		
<p>Si se aíslan microorganismos anaerobios formadores de esporas, preparar un subcultivo por duplicado en agar sangre defibrinada de carnero 5. Incubar a 37°C por 48 h en condiciones aerobias y anaerobias para verificar que los microorganismos no desarrollan no se desarrollan microorganismos bajo condiciones aerobias.</p>		
<p>Shigella</p>		
<p>Sembrar 2 ó 3 asadas del material preparado y homogeneizado como se describió en "Evaluación cualitativa" en placas de agar xilosa lisina dexosicolato. Incubar las placas de 35°C a 37° C durante 18-h a 24 h.</p>		
<p>El material pasa la prueba si no se observa crecimiento. La presencia de colonias rojas, de consistencia suaves, con un diámetro de 1 mm a 2 mm indica la posible presencia de <i>Shigella</i>. Sembrar en tubos que contengan agar hierro Kligler, inoculando en la superficie y el fondo. Incubar de 35°C a 37°C durante 12-h a 18 h. La prueba es positiva para la presencia de <i>Shigella</i> si se observa un cambio de color de rojo a amarillo en el fondo del tubo, pero no en la superficie, sin formación de gas y producción de ácido sulfhídrico.</p>		
<p>El material pasa la prueba si no aparecen colonias del tipo descrito o si la prueba bioquímica confirmatoria es negativa.</p>		
<p>Validación de pruebas para microorganismos específicos</p>		
<p>Cultivar por separado los microorganismos de prueba de la tabla 0170.4 sobre el medio de cultivo indicado, de 30°C a 35°C durante 18-h a 24 h. Diluir porciones de los cultivos usando solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 o solución amortiguadora de cloruro de sodio-peptona pH 7-0, de tal manera que las suspensiones de prueba contengan 10³ UFC por mililitro. Mezclar volúmenes iguales de cada suspensión y usar 0.4 mL (aproximadamente 10² UFC de cada</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*																								
microorganismos de prueba) como un inóculo en las pruebas para <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> , en presencia del material a examinar. El resultado debe dar positivo para el microorganismo de prueba respectivo.																										
Tabla 0170.4. La validación de las pruebas para la detección de microorganismos específicos en la muestra.																										
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Microorganismo</th> <th>Número de cepa</th> <th>Medio de cultivo</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>Escherichia coli</i></td> <td>NCIMB 8545 (ATCC 8739, CIP 53.126, IFO 3972)</td> <td>Caldo lactosado</td> </tr> <tr> <td><i>Pseudomonas aeruginosa</i></td> <td>NCIMB 8626 (ATCC 9027, CIP 82.118)</td> <td>Caldo digerido de soya-caseína</td> </tr> <tr> <td><i>Salmonella typhimurium</i></td> <td>No hay cepas recomendadas. Se recomiendan especies no patógenas en humanos como <i>Salmonella abony</i>, NCTC 6017, CIP 80.39)</td> <td>Caldo lactosado</td> </tr> <tr> <td><i>Clostridium botulinum</i></td> <td>ATCC 19997 (NTCTS 7272)</td> <td>Medio de carne cocida</td> </tr> <tr> <td><i>Clostridium perfringens</i></td> <td>ATCC 13124 (NCTC 8239)</td> <td>Medio de carne cocida</td> </tr> <tr> <td><i>Clostridium tetani</i></td> <td>ATCC e19406 (NCTC 279)</td> <td>Medio de carne cocida</td> </tr> <tr> <td><i>Staphylococcus aureus</i></td> <td>NCIMB 8625 (ATCC 6538 P, CIP 53.156) o NCIMB 9518 (ATCC 6538, CIP 4.83, IFO 13276)</td> <td>Caldo digerido de soya-caseína</td> </tr> </tbody> </table>	Microorganismo	Número de cepa	Medio de cultivo	<i>Escherichia coli</i>	NCIMB 8545 (ATCC 8739, CIP 53.126, IFO 3972)	Caldo lactosado	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCIMB 8626 (ATCC 9027, CIP 82.118)	Caldo digerido de soya-caseína	<i>Salmonella typhimurium</i>	No hay cepas recomendadas. Se recomiendan especies no patógenas en humanos como <i>Salmonella abony</i> , NCTC 6017, CIP 80.39)	Caldo lactosado	<i>Clostridium botulinum</i>	ATCC 19997 (NTCTS 7272)	Medio de carne cocida	<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC 13124 (NCTC 8239)	Medio de carne cocida	<i>Clostridium tetani</i>	ATCC e19406 (NCTC 279)	Medio de carne cocida	<i>Staphylococcus aureus</i>	NCIMB 8625 (ATCC 6538 P, CIP 53.156) o NCIMB 9518 (ATCC 6538, CIP 4.83, IFO 13276)	Caldo digerido de soya-caseína		
Microorganismo	Número de cepa	Medio de cultivo																								
<i>Escherichia coli</i>	NCIMB 8545 (ATCC 8739, CIP 53.126, IFO 3972)	Caldo lactosado																								
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCIMB 8626 (ATCC 9027, CIP 82.118)	Caldo digerido de soya-caseína																								
<i>Salmonella typhimurium</i>	No hay cepas recomendadas. Se recomiendan especies no patógenas en humanos como <i>Salmonella abony</i> , NCTC 6017, CIP 80.39)	Caldo lactosado																								
<i>Clostridium botulinum</i>	ATCC 19997 (NTCTS 7272)	Medio de carne cocida																								
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC 13124 (NCTC 8239)	Medio de carne cocida																								
<i>Clostridium tetani</i>	ATCC e19406 (NCTC 279)	Medio de carne cocida																								
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCIMB 8625 (ATCC 6538 P, CIP 53.156) o NCIMB 9518 (ATCC 6538, CIP 4.83, IFO 13276)	Caldo digerido de soya-caseína																								
NCTC <i>National Collection of Type Cultures.</i>																										
ATCC <i>American Type Culture Collection</i>																										
CIP <i>Collection de l'Institut Pasteur</i>																										
IMI <i>Commonwealth Mycological Institute</i>																										

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
NCIMB <i>The National Collection of Industrial and Marine Bacteria Limited</i>		
NCPF <i>National Collection of Pathogenic Fungi</i>		
NBRC <i>National Board for Respiratory Core</i>		
IFO <i>Institute for Fermentation, Osaka, Japan</i>		
LÍMITES DE CONTAMINACIÓN MICROBIANA EN MATERIALES PROCEDENTES DE PLANTAS MEDICINALES		
Se establecen límites diferentes de acuerdo al uso del material y a la naturaleza del mismo.		
Para contaminación de material vegetal "crudo" no tratado o cosechado en condiciones de higiene aceptables, que será sometido a procesos posteriores (incluyendo tecnologías de extracción o descontaminación adicional por medios físicos o químicos), se establecen en límites, para material vegetal no tratado, cosechado en condiciones de higiene aceptables de contaminación microbiana específicos (tomados de guías establecidas por un comité consultivo internacional).		
<i>Escherichia coli</i> , máximo 10 ⁴ UFC por gramo.		
Propágulos de hongos, máximo 10 ⁵ UFC por gramo.		
Para material vegetal o productos que contienen material vegetal con o sin aditivos, destinados a la preparación de infusiones o decocciones usando agua hirviendo (por ejemplo, tés, tisanas e infusiones con o sin saborizantes añadidos).		
Bacterias aerobias, máximo 10 ⁷ UFC por gramo.		
Levaduras y hongos, máximo 10 ⁵⁻⁴ UFC por gramo.		
<i>Escherichia coli</i> , máximo 10 ²³ UFC por gramo.		
Otras enterobacterias, máximo 10 ⁴ UFC por gramo.		
<i>Salmonella</i> , ninguna.		
Para material vegetal, extractos y/o drogas vegetales con o sin aditivos, en los cuales el método de procesamiento o pretratamiento reduce los niveles de microorganismos por debajo de los establecidos.		
Bacterias aerobias, máximo 10 ⁴ UFC por gramo o por mililitro.		
Levaduras y hongos, máximo 5 × 10 ² UFC por gramo o por mililitro.		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
Bacterias gram negativas tolerantes a la bilis, máximo 102 UFC por gramo o por mililitro.		
<i>Escherichia coli</i> , ninguna		
<i>Salmonella</i> , ninguna		
Para material vegetal o productos que contienen extractos con o sin aditivos en los cuales no se ha determinado que el método de procesamiento o pretratamiento (por ejemplo, extracción con etanol o agua potable), reduzca los niveles de microorganismos lo suficiente para alcanzar los criterios de aceptación.		
Bacterias aerobias, máximo 5×10^5 UFC por gramo o por mililitro.		
Levaduras y hongos, máximo 5×10^4 UFC por gramo o por mililitro.		
Bacterias gram negativas tolerantes a la bilis, máximo 10^4 UFC por gramo o por mililitro.		
<i>Escherichia coli</i> , ninguna		
<i>Salmonella</i> , ninguna		
Para otros materiales de uso interno:		
Bacterias aerobias, máximo 10^5 UFC por gramo.		
Levaduras y hongos (mohos), máximo 10^3 UFC por gramo.		
<i>Escherichia coli</i> , máximo 10 UFC por gramo.		
Otras enterobacterias, máximo 10^3 UFC por gramo.		
<i>Salmonella</i> , ninguna.		

*Para una mejor comprensión de su solicitud adjunte bibliografía u otros documentos que sustenten sus comentarios.