

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

**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 2022, 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](mailto: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*
<p><b>MGA 0571. LÍMITES MICROBIANOS</b></p> <p>Estas pruebas tienen como objetivo evaluar la calidad microbiológica de productos farmacéuticos (materias primas, productos intermedios y terminados), mediante la cuenta de organismos mesofílicos aerobios, hongos filamentosos y levaduras; así como la investigación de microorganismos específicos. <del>Los métodos microbiológicos alternativos pueden utilizarse siempre que se demuestre su equivalencia con el método farmacopeico</del>-El uso de métodos microbiológicos alternativos debe apegarse al <i>Apéndice IX Métodos alternativos para el control de calidad microbiológico</i>. En los productos no estériles que carecen de especificación, aplicar el <i>Apéndice VII Análisis microbiológico de productos farmacéuticos no estériles</i>, con carácter obligatorio.</p>		
<p><b>RECOMENDACIONES GENERALES.</b> Las muestras deben trabajarse bajo condiciones asépticas. Se</p>		



"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>mezclar, envasar y esterilizar. Almacenar en refrigeración.</p> <p><b>Solución de uso.</b> Diluir 1.25 mL de la solución concentrada en 1 000 mL de agua purificada. Envasar en volúmenes de 90 y 9 mL y esterilizar en autoclave usando procesos validados.</p>		
<p><b>Solución amortiguadora de cloruro de sodio-peptona pH 7.0</b></p> <p>Fosfato monobásico de potasio 3.6 g</p> <p>Fosfato dibásico de sodio 7.2 g, (equivalentes al dihidratado fosfato 0.067 M)</p> <p>Cloruro de sodio 4.3 g</p> <p>Peptona (carne o caseína) 1.0 g</p> <p>Agua purificada 1 000 mL</p> <p>Esterilizar en autoclave usando procesos validados.</p>		
<p><b>Caldo soya tripticaseína</b></p> <p>Digerido pancreático de caseína</p> <p>Digerido papaínico de soya 3.0 g</p> <p>Cloruro de sodio 5.0 g</p> <p>Fosfato dibásico de potasio 2.5 g</p> <p>Glucosa monohidratada 2.5 g</p> <p>Agua purificada 1 000 mL</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea <math>7.3 \pm 0.2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. Esterilizar en autoclave usando procesos validados.</p>		
<p><b>Agar soya tripticaseína</b>  Digerido pancreático de caseína 15.0 g  Digerido papáinico de soya 5.0 g  Cloruro de sodio 5.0 g  Agar 15.0 g  Agua purificada 1 000 mL  Ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea <math>7.3 \pm 0.2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. Esterilizar en autoclave usando procesos validados.</p>		
<p><b>Agar dextrosa Sabouraud</b>  Dextrosa 40.0 g  Mezcla del digerido péptico del tejido animal y digerido pancreático de caseína (1:1) 10.0 g  Agar 15.0 g  Agua purificada 1 000 mL  Ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea <math>5.6 \pm 0.2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. Esterilizar en autoclave usando procesos validados.</p>		
<p><b>Agar papa dextrosa</b>  Infusión de papa 200 g  Dextrosa 20.0 g  Agar 15.0 g  Agua purificada 1 000 mL</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Ajustar pH de modo que después de la esterilización sea <math>5.6 \pm 0.2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. Esterilizar en autoclave usando procesos validados. Cuando se requiera acidificar el medio adicionando aproximadamente 1.4 mL de solución de ácido tartárico estéril al 10 % por cada 100 mL de medio de cultivo, pH final <math>3.5 \pm 0.2</math>.</p>		
<p><b>Caldo dextrosa Sabouraud</b></p> <p>Dextrosa 20.0 g</p> <p>Mezcla de digerido péptico del tejido animal y de digerido pancreático de caseína (1: 1) 10.0 g</p> <p>Agua purificada 1 000 mL</p> <p>Ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea <math>5.6 \pm 0.2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. Esterilizar en autoclave usando procesos validados.</p>		
<p><b>Caldo-Mossel de enriquecimiento de enterobacterias</b></p> <p>Digerido pancreático de gelatina 10.0 g</p> <p>Glucosa monohidratada 5.0 g</p> <p>Bilis de buey deshidratada 20.0 g</p> <p>Fosfato monobásico de potasio 2.0 g</p> <p>Fosfato dibásico de sodio dihidratado 8.0 g</p> <p>Verde brillante 15 mg</p> <p>Agua purificada 1 000 mL</p> <p>Calentar a <math>100\text{ }^{\circ}\text{C}</math> durante 30 min y enfriar de inmediato. Ajustar el pH a <math>7.2 \pm 0.2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p><b>Agar glucosa rojo violeta bilis</b></p> <p>Extracto de levadura 3.0 g</p> <p>Digerido pancreático de gelatina 7.0 g</p> <p>Sales biliares 1.5 g</p> <p>Cloruro de sodio 5.0 g</p> <p>Glucosa monohidratada 10.0 g</p> <p>Agar 15.0 g</p> <p>Rojo neutro 30 mg</p> <p>Cristal violeta 2 mg</p> <p>Agua purificada 1 000 mL</p> <p>Calentar a ebullición y enfriar. Ajustar el pH a 7.4 ± 0.2 a 25 °C.</p> <p><b>Nota:</b> no esterilizar.</p>		
<p><b>Caldo MacConkey</b></p> <p>Digerido pancreático de gelatina 20.0 g</p> <p>Lactosa monohidratada 10.0 g</p> <p>Bilis de buey deshidratada 5.0 g</p> <p>Púrpura de bromocresol 10 mg</p> <p>Agua purificada 1 000 mL</p> <p>Ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea 7.3 ± 0.2 a 25 °C. Esterilizar en autoclave usando procesos validados.</p>		
<p><b>Agar MacConkey</b></p> <p>Digerido pancreático de gelatina 17.0 g</p> <p>Peptonas (de carne y de caseína) 3.0 g</p> <p>Lactosa monohidratada 10.0 g</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
Cloruro de sodio 5.0 g Sales biliares 1.5 g Agar 13.5 g Rojo neutro 30.0 mg Cristal violeta 1 mg Agua purificada 1 000 mL Ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea $7.1 \pm 0.2$ a 25 °C. Calentar a ebullición durante 1 min con agitación constante, esterilizar en autoclave usando procesos validados.		
<b>Caldo Rappaport Vassiliadis de enriquecimiento para <i>Salmonella</i></b> Peptona de soya 4.5 g Cloruro de magnesio hexahidratado 29.0 g Cloruro de sodio 8.0 g Fosfato dibásico de potasio 0.4 g Fosfato monobásico de potasio 0.6 g Verde de malaquita 0.036 g Agua purificada 1 000 mL Disolver por calentamiento suave. Esterilizar en autoclave usando procesos validados, (la temperatura no debe ser mayor de 115 °C). El pH debe ser de $5.2 \pm 0.2$ a 25 °C después de calentar y de esterilizar.		
<b>Agar xilosa lisina desoxicolato</b> Xilosa 3.5 g		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>L-Lisina 5.0 g Lactosa monohidratada 7.5 g Sacarosa 7.5 g Cloruro de sodio 5.0 g Extracto de levadura 3.0 g Rojo de fenol 80 mg Agar 13.5 g Desoxicolato de sodio 2.5 g Tiosulfato de sodio 6.8 g Citrato férrico de amonio 0.8 g Agua purificada 1 000 mL Ajustar el pH de modo que después de calentar a ebullición sea de <math>7.4 \pm 0.2</math> a 25 °C. Enfriar a 50 °C y distribuir en cajas de Petri.</p>		
<p><b>Agar ceftrimida</b> Digerido pancreático de gelatina 20.0 g Cloruro de magnesio 1.4 g Sulfato dipotásico 10.0 g Ceftrimida 0.3 g Agar 13.6 g Agua purificada 1 000 mL Glicerol 10.0 mL Calentar a ebullición durante 1 min con agitación constante. Ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea de <math>7.2 \pm 0.2</math> a 25 °C.</p>		



"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
Esterilizar en autoclave usando procesos validados.		
<p><b>Agar sal manitol</b></p> <p>Digerido pancreático de caseína            5.0 g</p> <p>Digerido péptico de tejido animal        5.0 g</p> <p>Extracto de carne                                1.0 g</p> <p>D-Manitol    10.0 g</p> <p>Cloruro de sodio                                 75.0 g</p> <p>Agar    15.0 g</p> <p>Rojo de fenol                                     0.025 g</p> <p>Agua purificada                                1 000 mL</p> <p>Calentar a ebullición durante 1 min con agitación constante. Ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea de <math>7.4 \pm 0.2</math> a 25 °C. Esterilizar en autoclave usando procesos validados.</p>		
<p><b>Medio de enriquecimiento para Clostridios</b></p> <p>Extracto de carne                                10.0 g</p> <p>Peptona    10.0 g</p> <p>Extracto de levadura                            3.0 g</p> <p>Almidón soluble                                 1.0 g</p> <p>Glucosa monohidratada                       5.0 g</p> <p>Clorhidrato de cisteína                        0.5 g</p> <p>Cloruro de sodio                                 5.0 g</p> <p>Acetato de sodio                                 3.0 g</p> <p>Agar    0.5 g</p> <p>Agua purificada                                1 000 mL</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*																
<p>Hidratar el agar, disolver calentando a ebullición con agitación continua. En caso necesario, ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea de <math>6.8 \pm 0.2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. Esterilizar en autoclave usando procesos validados.</p>																		
<p><b>Agar Columbia</b></p> <table border="0"> <tr> <td>Digerido pancreático de caseína</td> <td>10.0 g</td> </tr> <tr> <td>Digerido péptico de carne</td> <td>5.0 g</td> </tr> <tr> <td>Extracto de corazón</td> <td>3.0 g</td> </tr> <tr> <td>Extracto de levadura</td> <td>5.0 g</td> </tr> <tr> <td>Almidón de maíz</td> <td>1.0 g</td> </tr> <tr> <td>Cloruro de sodio</td> <td>5.0 g</td> </tr> <tr> <td>Agar, según su capacidad de gelificación</td> <td>10.0-15.0 g</td> </tr> <tr> <td>Agua purificada</td> <td>1 000 mL</td> </tr> </table> <p>Hidratar el agar, disolver calentando hasta ebullición con agitación constante. En caso necesario, ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea de <math>7.3 \pm 0.2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. Esterilizar en autoclave usando procesos validados, enfriar a <math>45</math> a <math>50\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. En caso de ser necesario agregar sulfato de gentamicina que corresponda a 20 mg de gentamicina base y verter en cajas de Petri estériles.</p>	Digerido pancreático de caseína	10.0 g	Digerido péptico de carne	5.0 g	Extracto de corazón	3.0 g	Extracto de levadura	5.0 g	Almidón de maíz	1.0 g	Cloruro de sodio	5.0 g	Agar, según su capacidad de gelificación	10.0-15.0 g	Agua purificada	1 000 mL		
Digerido pancreático de caseína	10.0 g																	
Digerido péptico de carne	5.0 g																	
Extracto de corazón	3.0 g																	
Extracto de levadura	5.0 g																	
Almidón de maíz	1.0 g																	
Cloruro de sodio	5.0 g																	
Agar, según su capacidad de gelificación	10.0-15.0 g																	
Agua purificada	1 000 mL																	
<p><b>Agar Selectivo para <i>Burkholderia cepacia</i></b></p> <table border="0"> <tr> <td>Peptona de caseína</td> <td>10.0 g</td> </tr> <tr> <td>Lactosa</td> <td>10.0 g</td> </tr> <tr> <td>Sacarosa</td> <td>10.0 g</td> </tr> </table>	Peptona de caseína	10.0 g	Lactosa	10.0 g	Sacarosa	10.0 g												
Peptona de caseína	10.0 g																	
Lactosa	10.0 g																	
Sacarosa	10.0 g																	

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Cloruro de sodio 5.0 g</p> <p>Extracto de Levadura 1.5 g</p> <p>Rojo de fenol 0.08 g</p> <p>Gentamicina 10.0 mg</p> <p>Vancomicina 2.5 mg</p> <p>Cristal violeta 2.0 mg</p> <p>Polimixina B 600,000 U</p> <p>Agar 14.0 g</p> <p>Agua Purificada 1 000 mL</p> <p>Hidratar el agar, disolver calentando hasta ebullición con agitación constante. Cuando se prepare el medio en el laboratorio, primero prepare los ingredientes base sin los antibióticos. Ajustar el pH para que después de la esterilización sea de <math>6.8 \pm 0.3</math> a 25 °C. Esterilizar en autoclave utilizando procesos validados. Enfríe el medio base de 45 a 50 °C y agregue una solución al 1 % de los antibióticos estériles filtrados, mezcle y vierta en las placas.</p>		
<p><b>PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO Y CARACTERÍSTICAS SELECTIVAS E INHIBITORIAS DE LOS MEDIOS DE CULTIVO</b></p>		
<p>Considerando las indicaciones de las <i>tablas 0571.1</i> y <i>0571.2</i> analizar cada lote de medio de cultivo listo para usar y los preparados a partir de ingredientes o de medio deshidratado.</p>		
<p><b>PRUEBAS DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO.</b></p>		
<p><b>Medios de cultivo líquidos.</b> Inocular un volumen apropiado del medio de cultivo con no más de 100 UFC del microorganismo de referencia. Incubar los</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>medios de cuenta de acuerdo a las condiciones indicadas en la <i>tabla 0571.1</i> y los medios para determinación de microorganismos específicos a la temperatura especificada en la prueba y durante un tiempo no mayor que el menor indicado en la misma. Si el crecimiento es comparable con el del medio control, el medio de prueba cumple.</p>		
<p><b>Medios de cultivo sólidos.</b> Para la prueba utilizar el método de extensión en superficie o de vaciado en placa. Inocular el medio de cultivo sólido con no más de 100 UFC del microorganismo de referencia. Incubar los medios de cuenta de acuerdo a las condiciones indicadas en la <i>tabla 0571.1</i> y los medios para determinación de microorganismos específicos a la temperatura especificada en la prueba y durante un tiempo no mayor que el menor indicado en la misma. El crecimiento no debe diferir en un factor mayor de 2 a partir del valor calculado para un inóculo estandarizado en un medio de cultivo analizado y aprobado previamente (lote control).</p>		
<p><b>DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES SELECTIVAS Y DIFERENCIALES DE MEDIOS DE CULTIVO.</b></p>		
<p><b>Propiedades selectivas.</b> Inocular un volumen apropiado del medio de cultivo con no más de 100 UFC de los microorganismos de referencia en medios líquidos. Para medios sólidos selectivos utilizar el método de extensión en superficies inoculando con no más de 100 UFC del microorganismo de referencia. Incubar a la temperatura especificada durante un tiempo no</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>menor que el periodo mayor indicado en la prueba. Los microorganismos de referencia no deben crecer. Los microorganismos de referencia deben cumplir con las propiedades selectivas véase <i>tabla 0571.2</i>.</p>		
<p><b>Propiedades diferenciales.</b> Para la prueba utilizar el método de extensión en superficie. Inocular cada una de las placas con medio de cultivo con no más de 100 UFC del microorganismo de referencia. Incubar a la temperatura especificada durante un periodo que se encuentre en el intervalo indicado en la prueba. Las colonias deben presentar las características morfológicas y reacciones indicadoras que presenten los medios de cultivo previamente aprobados (control).</p>		
<p>Para medios de cultivo sólidos, el crecimiento no debe diferir en un factor mayor de 2 a partir del valor calculado para un inóculo estandarizado en un medio de cultivo analizado y aprobado previamente (lote control).</p>		
<p>Los medios de cultivo líquidos, cumplen la prueba de promoción si el crecimiento del microorganismo de prueba es comparable con el crecimiento de un lote de medio analizado y aprobado previamente (lote control).</p>		
<p><b>MÉTODOS DE CUENTA MICROBIANA</b></p>		
<p>Filtración por membrana</p>		
<p>Cuenta en placa (vaciado y extensión)</p>		
<p>Número más probable (NMP)</p>		
<p>La elección del método se basa en la naturaleza del producto y las especificaciones establecidas para cada producto, el método elegido debe</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>permitir analizar la cantidad de muestra suficiente para evaluar el cumplimiento de las especificaciones. Cualquiera que sea el método elegido se debe probar su aptitud.</p>		
<p><b>EVALUACIÓN DE LA APTITUD DEL MÉTODO DE CUENTA.</b> La aptitud de las pruebas para recuperar a los microorganismos de referencia en presencia del producto debe determinarse y confirmarse cada vez que se introduzca un cambio en el método o en el producto. Esta evaluación corresponde al control positivo de la prueba.</p>		
<p><b>CONTROLES NEGATIVOS.</b> Para verificar las condiciones de la prueba, usar el diluyente seleccionado como control negativo en lugar del producto. En los controles no debe haber crecimiento de los microorganismos.</p>		
<p><b>PREPARACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DE REFERENCIA.</b> Mantener a los microorganismos de referencia mediante el sistema lote semilla véase <i>Apéndice VI, Conservación, mantenimiento y manejo de cultivos microbianos: sistema lote semilla</i>, de manera que los microorganismos no tengan más de 5 pases a partir de la cepa original o un sistema de conservación que asegure esto (Se debe considerar el pase indicado en el certificado de la cepa de referencia).</p>		
<p>Para preparar las suspensiones de los microorganismos de referencia, usar solución amortiguadora de cloruro de sodio peptona pH 7.0 o solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2; para suspender las esporas de <i>Aspergillus brasiliensis</i>,</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
añadir 0.05 % de polisorbato 80 a la solución amortiguadora. Las suspensiones deben utilizarse dentro de un periodo de 2 a 24 h cuando se almacenan en refrigeración (2 a 8 °C). Un periodo diferente puede establecerse siempre que se demuestre la estabilidad de las suspensiones.		
Determinar la estabilidad de las suspensiones de esporas de <i>A. brasiliensis</i> y <i>Bacillus subtilis</i> conservadas entre 2 y 8 °C.		
Cultivar los microorganismos de referencia como se describe en la <i>tabla 0571.1</i> .		

Tabla 0571.1. Preparación y uso de los microorganismos de referencia para el método de cuenta.

Microorganismo	Preparación de la cepa	Promoción de crecimiento Cuenta		Prueba de aptitud del método cuenta en presencia del producto	
		Organismos mesofílicos aerobios (OMA)	Hongos filamentosos y levaduras (HL)	Organismos mesofílicos aerobios (OMA)	Hongos filamentosos y levaduras (HL)
<i>Staphylococcus aureus</i>		Agar o caldo soya		Agar o caldo soya	
ATCC 6538	Agar o caldo soya tripticaseína	tripticaseína		tripticaseína (NMP)	
NCIMB 9518	30 a 35 °C	≤ 100 UFC	-	≤ 100 UFC	-
CIP 4.83	18 a 24 h	30 a 35 °C		30 a 35 °C	
NBRC 13276		≤ 3 días		≤ 3 días	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Agar o caldo soya		Agar o caldo soya	
ATCC 9027	Agar o caldo soya tripticaseína	tripticaseína		tripticaseína (NMP)	
NCIMB 8626	30 a 35 °C	≤ 100 UFC	-	≤ 100 UFC	
CIP 82.118	18 a 24 h	30 a 35 °C		30 a 35 °C	
NBRC 13275		≤ 3 días		≤ 3 días	

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 NCIMB 8054 CIP 52.62 NBRC 3134	Agar o caldo soya tripticaseína 30 a 35 °C 18 a 24 h	Agar o caldo soya tripticaseína ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 3 días	-	Agar o caldo soya tripticaseína (NMP) ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 3 días	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231 NCPF 3179 CIP 48.72 NBRC 1594	Agar o caldo dextrosa Sabouraud 20 a 25 °C 2 a 3 días	Agar soya tripticaseína ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 5 días	Agar dextrosa Sabouraud ≤ 100 UFC 20 a 25 °C ≤ 5 días	Agar soya tripticaseína ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 5 días NMP: no aplica	Agar dextrosa Sabouraud ≤ 100 UFC 20 a 25 °C ≤ 5 días
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404 IMI 149007 CIP 1431.83 NBRC 9455	Agar dextrosa Sabouraud o Agar papa dextrosa 20 a 25 °C, 5 a 7 días o hasta lograr una buena esporulación	Agar soya tripticaseína ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 5 días	Agar dextrosa Sabouraud ≤ 100 UFC 20 a 25 °C ≤ 5 días	Agar soya tripticaseína ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 5 días NMP: no aplica	Agar dextrosa Sabouraud- ≤ 100 UFC 20 a 25 °C ≤ 5 días
<i>Burkholderia cepacia</i> ATCC 25416 NCTC 10743 CIP 80.24	Agar o caldo soya tripticaseína 30 a 35 °C 18 a 24 h	Agar o caldo soya tripticaseína ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 3 días		Agar o caldo soya tripticaseína ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 3 días	
<i>Burkholderia cenocepacia</i> ATCC BAA-245 LMG 16656	Agar o caldo soya tripticaseína 30 a 35 °C 18 a 24 h	Agar o caldo soya tripticaseína ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 3 días		Agar o caldo soya tripticaseína ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 3 días	
<i>Burkholderia multivorans</i> ATCC BAA-247 LMG 13010 CCUG 34080 CIP 105495	Agar o caldo soya tripticaseína 30 a 35 °C 18 a 24 h	Agar o caldo soya tripticaseína ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 3 días		Agar o caldo soya tripticaseína ≤ 100 UFC 30 a 35 °C ≤ 3 días	



"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

DSM 13243  
NCTC 13007

ATCC American Type Culture Collection  
CIP Collection de l'Institut Pasteur  
IMI Commonwealth Mycological Institute

NCIMB The National Collection of Industrial and Marine Bacteria Limited  
NCPF National Collection of Pathogenic Fungi  
NBRC National Board for Respiratory Core

Dice	Debe decir	Justificación*
------	------------	----------------

Tabla 0571.2. Características de crecimiento de los microorganismos de referencia en los medios de cultivo para determinación de microorganismos específicos.

Microorganismos de prueba	Medio	Efectos sobre el crecimiento	Microorganismo de referencia
Bacterias Gram-negativas bilis-tolerantes	Caldo-Mossel de enriquecimiento para enterobacterias	Promoción	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>
		Inhibición	<i>S. aureus</i>
	Agar glucosa rojo violeta bilis	Promoción del crecimiento + indicador	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>
<i>Escherichia coli</i>	Caldo MacConkey	Promoción del crecimiento	<i>E. coli</i>
		Inhibitorio	<i>S. aureus</i>
	Agar MacConkey	Promoción del crecimiento + indicador	<i>E. coli</i>
<i>Salmonella spp</i>	Caldo Rappaport Vassiliadis de enriquecimiento para <i>Salmonella</i>	Promoción del crecimiento	<i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> serovar <i>typhimurium</i> , ATCC 14028 o <i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> serovar <i>abony</i> NBRC 100797, NCTC 6017, CIP 80.39
		Inhibitorio	<i>S. aureus</i>

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Microorganismos de prueba	Medio	Efectos sobre el crecimiento	Microorganismo de referencia
	Agar xilosa, lisina, desoxicolato	Promoción del crecimiento + indicador	<i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> serovar <i>typhimurium</i> , ATCC 14028 o <i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> serovar <i>abony</i> NBRC 100797, NCTC 6017, CIP 80.39
		Indicador	<i>E. coli</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agar cetrimida	Promoción del crecimiento	<i>P. aeruginosa</i>
		Inhibitorio	<i>E. coli</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	Agar selectivo para <i>Burkholderia cepacia</i>	Promoción del crecimiento	<i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Burkholderia cenocepacia</i> , <i>Burkholderia multivorans</i>
		Inhibitorio	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar sal manitol	Promoción del crecimiento + indicador	<i>S. aureus</i>
		Inhibitorio	<i>E. coli</i>
<i>Clostridium sporogenes</i>	Medio de enriquecimiento para clostridios	Promoción del crecimiento	<i>Cl. sporogenes</i>
	Agar Columbia	Promoción del crecimiento	<i>Cl. sporogenes</i>
<i>Candida albicans</i>	Caldo dextrosa Sabouraud	Promoción del crecimiento	<i>C. albicans</i>
	Agar dextrosa Sabouraud	Promoción del crecimiento + indicador	<i>C. albicans</i>
Dice	Debe decir		Justificación*

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p><b>PRUEBA DE APTITUD DEL MÉTODO DE CUENTA EN PRESENCIA DEL PRODUCTO.</b> La validez de las pruebas que constituyen este capítulo, se basa en su capacidad para poner en evidencia a los microorganismos presentes en una sustancia o producto farmacéutico. Por esta razón, antes de establecer en forma rutinaria su análisis, es necesario demostrar la aptitud del método para recuperar a los microorganismos de referencia previamente inoculados en la muestra bajo las condiciones de prueba.</p>		
<p><b>PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.</b> La preparación de la muestra depende de las características físicas del producto de prueba. Sin embargo, si ninguno de los procedimientos descritos en este capítulo es satisfactorio para el análisis de un producto determinado, se debe desarrollar un procedimiento alternativo.</p>		
<p>Preparar la muestra de acuerdo a sus características físicas, elegir el método adecuado para obtener una solución, suspensión o emulsión sin alterar el número y tipo de microorganismos presentes en el producto.</p>		
<p><b>Productos solubles en agua.</b> Diluir el producto de prueba (usualmente en una proporción 1 en 10) en solución amortiguadora de cloruro de sodio peptona pH 7.0, solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 o caldo soya tripticaseína. Si es necesario, ajustar el pH de 6 a 8. Cuando se requiera preparar más diluciones, utilizar el mismo diluyente.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p><b>Productos no grasos insolubles en agua.</b> Suspender el producto de prueba (usualmente en una proporción de 1 en 10) en solución amortiguadora de cloruro de sodio peptona pH 7.0, solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 o caldo soya tripticaseína. Para este tipo de productos puede agregarse un agente tensoactivo como el polisorbato 80 en una concentración de 1 g/L. Si es necesario, ajustar el pH de 6 a 8. Cuando se requiera preparar más diluciones, utilizar el mismo diluyente.</p>		
<p><b>Líquidos viscosos.</b> Para muestras viscosas que no puedan medirse con pipeta en la dilución 1:10, efectuar diluciones 1:50 o 1:100.</p>		
<p><b>Productos grasos.</b> Disolver el producto de prueba en miristato de isopropilo esterilizado por filtración o mezclar con la cantidad mínima necesaria de polisorbato 80 estéril u otro agente tensoactivo no inhibitorio estéril, calentar si es necesario a no más de 40 °C, en casos excepcionales a no más de 45 °C. Mezclar cuidadosamente, mantener la muestra en baño de agua el tiempo necesario para formar una emulsión. Añadir la cantidad necesaria del diluyente seleccionado precalentado para obtener una dilución 1 en 10 del producto, mezclar cuidadosamente. Cuando se requiera preparar más diluciones decimales usar el diluyente seleccionado que contenga polisorbato 80 estéril u otro agente tensoactivo no inhibitorio estéril en una concentración adecuada.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p><b>Líquidos o sólidos en aerosol.</b> Transferir asépticamente el producto de prueba dentro de una unidad de filtración con membrana o a un contenedor estéril. Usar el contenido total o un número definido de dosis de cada contenedor.</p>		
<p><b>Parches transdérmicos.</b> Sobre una superficie estéril, remover la cubierta protectora de los parches y colocarlos con el adhesivo hacia arriba. Cubrir el adhesivo con gasa estéril para evitar que los parches se adhieran, y transferirlos a un volumen adecuado del diluyente seleccionado conteniendo inactivantes como el polisorbato 80 y (o) lecitina. Agitar la preparación vigorosamente al menos durante 30 min.</p>		
<p><b>INOCULACIÓN Y DILUCIÓN.</b> A la muestra preparada como se describe en <i>Preparación de la muestra</i> y al control negativo (diluyente sin producto de prueba), inocular un volumen de la suspensión microbiana que contenga no más de 100 UFC. El volumen del inóculo no debe exceder del 1 % del volumen del producto diluido.</p>		
<p>Para demostrar si la recuperación de los microorganismos es aceptable, usar el factor de dilución más bajo (dilución 1:10); de la muestra preparada para la prueba, cuando esto no sea posible debido a la actividad antimicrobiana o a la pobre solubilidad de la muestra se deben desarrollar protocolos apropiados. Si la muestra inhibe el crecimiento, adicionar la suspensión microbiana después de neutralizarla o diluirla.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p><b>NEUTRALIZACIÓN O ELIMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.</b> El número de microorganismos recuperados en la muestra preparada como se describe en <i>Inoculación y dilución</i> e incubada siguiendo las indicaciones descritas en <i>Recuperación de microorganismos en presencia del producto</i>, se compara con el número de los microorganismos recuperados en la preparación control.</p>		
<p>Si el crecimiento se inhibe (con un factor mayor que 2), modificar el método de cuenta para asegurar la validez de los resultados. La modificación del método puede incluir: (1) incrementar el volumen del diluyente o del medio de cultivo, (2) incorporar al diluyente un agente neutralizante general o específico, (3) emplear el método de filtración de membrana, o (4) una combinación de estos procedimientos.</p>		
<p>Los agentes que se usan para neutralizar la actividad antimicrobiana aparecen en la <i>tabla 0571.3</i>. Estos neutralizantes pueden añadirse al diluyente seleccionado o al medio de cultivo, preferentemente antes de esterilizar, la eficacia y toxicidad de estos agentes para los microorganismos se debe demostrar usando un control con neutralizante y sin producto.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Tabla 0571.3. Agentes neutralizantes para sustancias con actividad antimicrobiana.

Sustancias con actividad antimicrobiana	Neutralizantes potenciales
Glutaraldehído, mercuriales	Sulfito ácido de sodio (bisulfito de sodio)
Fenoles, alcohol, aldehídos, sorbatos	Dilución
Aldehídos	Glicina
Sales cuaternarias de amonio, parahidroxibenzoatos (parabenos), bis-biguanidas	Lecitina
Sales cuaternarias de amonio, yodo, parabenos	Polisorbato
Mercuriales	Tioglicolato
Mercuriales, halógenos, aldehídos	Tiosulfato
EDTA (edetatos)	Iones $Mg^{2+}$ o $Ca^{2+}$

Dice	Debe decir	Justificación*
Si no se logra neutralizar la actividad antimicrobiana de la muestra, se puede asumir que el producto no es susceptible de contaminarse con las especies de microorganismos probadas, pero no con otros microorganismos. En consecuencia es necesario efectuar pruebas con una dilución más alta compatible con el crecimiento microbiano y el criterio de aceptación especificado.		
<b>VERIFICACIÓN DEL MÉTODO DE NEUTRALIZACIÓN.</b>		
En la verificación del método de neutralización se debe documentar que el agente neutralizante empleado inhibe las propiedades antimicrobianas del producto y que no afecta la recuperación de microorganismos viables, para lo cual se comparan		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
los resultados de microorganismos recuperados en los grupos de tratamiento descritos a continuación:		
Muestra más agente neutralizante. Preparar la muestra de acuerdo a su naturaleza como se indica en la sección <i>Preparación de la muestra</i> y tratarla con el método de neutralización seleccionado, posteriormente inocularla con no más de 100 UFC (como se indica en <i>Inoculación y dilución</i> ).		
Agente neutralizante más diluyente. Utilizar en lugar de la muestra un diluyente, por ejemplo, solución amortiguadora de fosfatos o cloruro de sodio-peptona, y tratarlo en las mismas condiciones que el grupo anterior, incluyendo el tratamiento con el agente neutralizante seleccionado, posteriormente inocular con el microorganismo de prueba (no más de 100 UFC).		
Control de inóculo. Inocular el diluyente seleccionado con no más de 100 UFC del microorganismo de prueba.		
Si se obtiene una recuperación similar del microorganismo de prueba entre el primer grupo y el segundo, se confirma que la eficacia del neutralizante es adecuada. Cuando la recuperación es similar entre el segundo y el tercer grupo se confirma la ausencia de toxicidad del diluyente.		
Para poder comparar la recuperación de cada microorganismo de prueba se deben realizar al menos tres repeticiones independientes por cada grupo descrito anteriormente, el recuento medio		



"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>del primer y segundo grupo no debe diferir en un factor mayor de dos (recuperación entre el 50 % y el 200 %) con respecto al grupo 3. Si se cumple con este criterio se puede asumir que el método de neutralización es apropiado.</p>		
<p>Adicionalmente cuando se cuenta con un mayor número de repeticiones se pueden analizar estadísticamente los datos (previamente transformar las UFC en logaritmo), mediante una prueba t de Student para comparaciones pareadas o bien con un análisis de varianza (ANOVA) para comparar los tres grupos.</p>		
<p><b>RECUPERACIÓN DE MICROORGANISMOS EN PRESENCIA DEL PRODUCTO.</b></p>		
<p>Realizar pruebas individuales para cada microorganismo enlistado. Contar únicamente los microorganismos agregados en la prueba.</p>		
<p><b>MÉTODOS DE CUENTA MICROBIANA</b></p>		
<p><b>1. Método de filtración por membrana.</b> Usar membranas con una porosidad nominal no mayor que 0.45 µm. El tipo de membrana se selecciona en función de su eficiencia para retener bacterias y la composición de la muestra de prueba.</p>		
<p>Para cada microorganismo enlistado en la <i>tabla 0571.1</i>, usar una membrana, transferir la cantidad adecuada de muestra preparada como se describe en <i>Preparación de la muestra</i> que represente 1 g del producto, o menos si el número de UFC esperado es elevado, filtrar inmediatamente y enjuagar la membrana con el volumen de diluyente determinado en la prueba de aptitud.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Para determinar la cuenta de organismos mesofilicos aerobios (OMA), transferir la membrana a la superficie de una placa de agar soya tripticaseína. Para la cuenta de hongos y levaduras (HL), transferir la membrana a la superficie de una placa de agar dextrosa Sabouraud, incubar las placas como indica la <i>tabla 0571.1</i> y contar el número de colonias.</p>		
<p><b>2. Método de cuenta en placa.</b> Efectuar el método por lo menos por duplicado para cada medio de cultivo y promediar para informar los resultados.</p>		
<p><b>2.1 Método de vaciado en placa.</b> Para cada microorganismo enlistado en la <i>tabla 0571.1</i>, usar al menos 2 cajas de Petri, a cada una añadir 1 mL de la muestra (preparada como se describe en <i>Preparación de la muestra</i> y en <i>Inoculación y dilución</i>) adicionar de 15 a 20 mL de agar soya tripticaseína o agar dextrosa Sabouraud, mantenido a una temperatura no mayor que 45 °C. Incubar las placas como se indica en la <i>tabla 0571.1</i>. Calcular el promedio de las cuentas y determinar el número de unidades formadoras de colonia por mililitro, gramo o por unidad de muestra.</p>		
<p><b>2.2 Método de extensión.</b> En cajas de Petri estériles, añadir de 15 a 20 mL de agar soya tripticaseína o agar dextrosa Sabouraud a una temperatura aproximada de 45 °C y permitir solidificar. Secar las placas, en campana de flujo laminar. Para cada microorganismo enlistado en la <i>tabla 0571.1</i>, usar al menos 2 cajas de Petri, extender sobre la superficie del medio de cultivo</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
0.1 mL de la muestra preparada como se describe en "Preparación de la muestra" y "Neutralización o eliminación de la actividad antimicrobiana", incubar y contar el número de colonias.		
<b>3. Método del Número Más probable (NMP).</b> La precisión y exactitud de este método es menor que el de filtración o de la cuenta en placa, los resultados no son confiables particularmente para la cuenta de hongos. Por esta razón el método del NMP se reserva para enumerar organismos mesofílicos aerobios cuando no se puede usar otro método. Sí su uso se justifica proceder como sigue:		
Preparar 3 diluciones decimales seriales del producto como se describe en "Preparación de la muestra" y en "Neutralización o eliminación de la actividad antimicrobiana". De cada dilución, tomar 3 alícuotas de 1 g o 1 mL para inocular 3 tubos con 9 o 10 mL de caldo soya tripticaseína. Si es necesario, añadir al medio un agente tensoactivo como el polisorbato 80 y un inactivador antimicrobiano. Incubar los tubos de 30 a 35 °C por no más de 3 días. Leer los tubos por turbiedad, si la lectura se dificulta por la naturaleza del producto, subcultivar en el mismo caldo, incubar durante 1 a 2 días en las mismas condiciones y leer por turbiedad. Determinar el número más probable de microorganismos por gramo o mililitro del producto de prueba en la <i>tabla 0571.4</i> .		
<b>RESULTADOS E INTERPRETACIÓN</b>		
Cuando se verifica la aptitud del método de filtración por membrana o el método de cuenta en		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
placa, el promedio de la cuenta de los microorganismos de referencia en presencia del producto, no debe diferir por un factor mayor que 2 de los valores del control.		
Ejemplo: Si la cuenta control es de 100 UFC el límite inferior aceptable para la muestra en análisis es $100 / 2 = 50$ UFC y el límite superior es de $100 \times 2 = 200$ UFC.		
Cuando se verifica la aptitud del método del NMP los valores calculados del inóculo deben estar dentro de los límites de confianza del 95 % de los resultados obtenidos con el control.		
Si este criterio no se cumple para uno o más de los microorganismos de referencia con los métodos descritos, utilizar el método y las condiciones de prueba más cercanas a esos criterios.		
<b>TAMAÑO DE LA MUESTRA DE PRUEBA</b>		
A menos que se indique otra condición en la monografía del producto, usar 10 g o 10 mL del producto de prueba. Para líquidos o sólidos en forma de aerosol analizar 10 contenedores y para parches transdérmicos 10 parches.		
El tamaño de muestra puede reducirse cuando la cantidad de muestra o del lote es extremadamente pequeño (menores de 1 000 mL o 1 000 g), en estas condiciones, la muestra debe ser del 1 % del tamaño del lote a menos que se justifiquen cantidades menores.		
Para productos donde el número total de unidades del lote es menor que 200, el tamaño de la muestra puede reducirse a 2 o 1 unidad si el total de		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>unidades del lote es menor que 100. Seleccionar al azar la muestra a partir del material a granel o de los envases disponibles del producto. Para obtener la cantidad de muestra requerida, mezclar el contenido de un número suficiente de envases.</p>		
<b>EXAMEN DEL PRODUCTO</b>		
<b>Examen del producto por el método de filtración por membrana</b>		
<p>Usar una unidad de filtración que permita transferir la membrana al medio de cultivo. Preparar las muestras usando un método cuya aptitud se haya demostrado previamente, transferir la cantidad apropiada de la mezcla a dos membranas, filtrar inmediatamente. Lavar cada membrana como se establece en la prueba de aptitud. Para las determinaciones de OMA, transferir la membrana a la superficie de una placa de agar soya tripticaseína. Para la determinación de HL, transferir la membrana a la superficie de una placa de agar dextrosa Sabouraud. Incubar la placa de agar soya tripticaseína de 30 a 35 °C durante 3 a 5 días y la placa de Agar dextrosa Sabouraud de 20 a 25 °C durante 5 a 7 días. Calcular el número de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo o por mililitro del producto.</p>		
<p>Cuando se examinan parches transdérmicos, filtrar el 10 % del volumen de la preparación descrita en <i>Preparación de la muestra a través de dos membranas estériles</i>. Transferir una membrana a agar soya tripticaseína para determinar OMA y la</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
otra membrana a agar dextrosa Sabouraud para determinar HL.		
<b>Análisis del producto por el método de vaciado en placa</b>		
Preparar la muestra usando un método cuya aptitud se haya demostrado previamente como se describe en <i>Aptitud del método</i> . Preparar para cada medio de cultivo al menos 2 cajas de Petri para cada dilución. Incubar las placas de agar soya tripticaseína a 30 a 35 °C de 3 a 5 días y las placas de agar dextrosa Sabouraud por 20 a 25 °C durante 5 a 7 días. Seleccionar las placas correspondientes a la dilución en la que el número de colonias no rebase las 250 UFC para OMA y 50 para HL. Calcular el promedio de la cuenta en cada medio de cultivo y determinar número de unidades formadoras de colonias por gramo o por mililitro de producto.		
<b>Análisis del producto por el método de extensión</b>		
Preparar la muestra usando un método cuya aptitud se haya demostrado previamente como se describe en <i>Aptitud del método</i> . Preparar al menos dos cajas de Petri para cada medio y cada dilución. Incubar y calcular el número de UFC como se describe en el método de vaciado en placa.		
<b>Análisis del producto por el método número más probable</b>		
Preparar y diluir la muestra usando un método cuya aptitud se haya demostrado previamente como se		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>describe en <i>Aptitud del método</i>. Incubar los tubos de 30 a 35 °C por 3 a 5 días. Subcultivar si es necesario. Registrar el número de tubos que muestren crecimiento en cada dilución. Determinar el número más probable de microorganismos por gramo o mililitro del producto de acuerdo a la <i>tabla 0571.3</i>.</p>		
<b>INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b>		
<p>La cuenta de OMA es el número de UFC determinado en agar soya tripticaseína. Si se presentan colonias de hongos en este medio, incluirlas en la cuenta. La cuenta de hongos filamentosos y levaduras (HL) es el número de UFC presentes en agar dextrosa Sabouraud; si se presentan colonias de bacterias en este medio, incluirlas en la cuenta. Cuando la cuenta de HL excede el criterio de aceptación debido al crecimiento bacteriano, usar agar dextrosa Sabouraud con antibióticos. Si la cuenta se efectúa por el método del NMP el valor calculado corresponde a la cuenta de OMA.</p>		
<b>DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS.</b>		
<p>Estas pruebas permiten investigar la presencia de microorganismos específicos y determinar si una sustancia o preparado farmacéutico cumple con las especificaciones microbiológicas establecidas.</p>		
<p>Para efectuar las pruebas seguir las instrucciones indicadas, se pueden utilizar procedimientos alternos, incluyendo los automatizados, siempre y cuando se demuestre su equivalencia con los métodos farmacopeicos.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
La aptitud de las pruebas para detectar microorganismos en presencia del producto debe establecerse y confirmarse cuando se introducen cambios en las pruebas o en el producto.		
Preparar el producto de prueba como se describe en <i>Preparación de la muestra</i> .		

Tabla 0571.4. Número más probable de microorganismos.

Combinaciones de tubos con crecimiento en cada dilución			Número más probable de microorganismos por gramo o por mililitro (NMP/g o NMP/mL)	Límites de confianza al 95 %
Número por gramos o mililitro de producto por tubo				
10 <sup>-1</sup> 0.1	10 <sup>-2</sup> 0.01	10 <sup>-3</sup> 0.001		
0	0	0	< 3	0 a 9.4
0	0	1	3	0.1 a 9.5
0	1	0	3	0.1 a 10
0	1	1	6.1	1.2 a 17
0	2	0	6.2	1.2 a 17
0	3	0	9.4	3.5 a 35
1	0	0	3.6	0.2 a 17
1	0	1	7.2	1.2 a 17
1	0	2	11	4 a 35
1	1	0	7.4	1.3 a 20
1	1	1	11	4 a 35
1	2	0	11	4 a 35
1	2	1	15	5 a 38



"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Tabla 0571.4. Número más probable de microorganismos.

**Combinaciones de tubos con crecimiento en cada dilución**

Número por gramos o mililitro de producto por tubo			Número más probable de microorganismos por gramo o por mililitro (NMP/g o NMP/mL)	Límites de confianza al 95 %
10 <sup>-1</sup> 0.1	10 <sup>-2</sup> 0.01	10 <sup>-3</sup> 0.001		
1	3	0	16	5 a 38
2	0	0	9.2	1.5 a 35
2	0	1	14	4 a 35
2	0	2	20	5 a 38
2	1	0	15	4 a 38
2	1	1	20	5 a 38
2	1	2	27	9 a 94
2	2	0	21	5 a 40
2	2	1	28	9 a 94
2	2	2	35	9 a 94
2	3	0	29	9 a 94
2	3	1	36	9 a 94
3	0	0	23	5 a 94
3	0	1	38	9 a 104
3	0	2	64	16 a 181
3	1	0	43	9 a 181
3	1	1	75	17 a 199
3	1	2	120	30 a 360
3	1	3	160	30 a 380

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Tabla 0571.4. Número más probable de microorganismos.

**Combinaciones de tubos con crecimiento en cada dilución**

Número por gramos o mililitro de producto por tubo			Número más probable de microorganismos por gramo o por mililitro (NMP/g o NMP/mL)	Límites de confianza al 95 %
10 <sup>-1</sup> 0.1	10 <sup>-2</sup> 0.01	10 <sup>-3</sup> 0.001		
3	2	0	93	18 a 360
3	2	1	150	30 a 380
3	2	2	210	30 a 400
3	2	3	290	90 a 990
3	3	0	240	40 a 990
3	3	1	460	90 a 1 980
3	3	2	1 100	200 a 4 000
3	3	3	> 1 100	

Dice	Debe decir	Justificación*
<b>PREPARACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DE REFERENCIA.</b> Usar suspensiones estables estandarizadas.		
Para conservar los microorganismos viables usar la técnica del sistema lote semilla véase <i>Apéndice VI, Conservación, mantenimiento y manejo de cultivos microbianos: sistema lote semilla</i> , de manera que los microorganismos de prueba no tengan más de 5 pases a partir del cultivo de referencia original o un sistema de conservación que asegure ésto (se		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
debe de considerar el pase indicado en el certificado de la cepa de referencia).		
<b>Microorganismos aerobios</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 o NCIMB 9518, CIP 4.83 NBRC 13276;		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 NBRC 13275;		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126 NBRC 3972;		
<i>Salmonella enterica</i> spp. <i>enterica</i> serotipo <i>typhimurium</i> , ATCC 14028 o <i>Salmonella enterica</i> spp. <i>enterica</i> serotipo <i>abony</i> NBRC 100797, NCTC 6017, CIP 80.39;		
<i>Burkholderia cepacia</i> ATCC 25416, NCTC 10743, CIP 80.24		
<i>Burkholderia cenocepacia</i> ATCC BAA-245, LMG 16656		
<i>Burkholderia multivorans</i> ATCC BAA-247, LMG 13010, CCUG 34080, CIP 105495, DSM 13243, NCTC 1300		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231 NCPF 3179, CIP 48.72 NBRC 1594.		
Cultivar individualmente los microorganismos bacterianos de referencia en agar o caldo soya tripticaseína de 30 a 35 °C durante 18 a 24 h. y <i>Candida albicans</i> en agar o caldo dextrosa Sabouraud de 20 a 25 °C durante 2 a 3 días.		
Preparar las suspensiones utilizando solución amortiguadora de cloruro de sodio-peptona pH 7.0 o solución amortiguadora de fosfato pH 7.2. Utilizar las suspensiones dentro de 2 a 24 h de su preparación si		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
se conservan de 2 a 8 °C. Un periodo diferente puede establecerse siempre que se demuestre la viabilidad de las suspensiones.		
<b>Microorganismos anaerobios</b>		
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437 (NBRC 14293, 12343 NCIMB, el CIP 100651) o ATCC 19404 (NCTC 532 o CIP 79.3) o NBRC 14293.		
Cultivar el microorganismo en condiciones anaeróbicas en el medio de enriquecimiento para clostridios. Incubar de 30 a 35 °C durante 24 a 48 h. Se pueden utilizar células vegetativas o esporas. La estabilidad de la suspensión de esporas de 2 a 8 °C debe determinarse.		
<b>Control negativo</b>		
Usar como control negativo el diluyente elegido en lugar de la preparación de la muestra. En el control negativo no debe haber crecimiento.		
<b>PRUEBAS DE APTITUD DEL MÉTODO</b>		
Preparar el producto de prueba como se describe en <i>Preparación de la muestra</i> .		
Inocular individualmente una suspensión que contenga no más de 100 UFC de cada uno de los microorganismos de referencia, incubar en las condiciones indicadas en <i>Preparación de microorganismos de referencia</i> ; el efecto sobre el crecimiento para cada microorganismo se debe presentar de acuerdo a lo descrito en <i>tabla 0571.4</i> . Esta evaluación corresponde al control positivo de la prueba.		
Si el producto presenta actividad antimicrobiana es necesario modificar el método de prueba de		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>acuerdo a la sección <i>Neutralización o eliminación de la actividad antimicrobiana</i>. Para verificar el método de neutralización, realizar tres repeticiones independientes de cada uno de los grupos indicados en el apartado <i>Verificación del método de neutralización</i> y considerar para la interpretación de resultados que todos los grupos deben presentar crecimiento claramente visible y que éste es comparable con el crecimiento obtenido en el grupo 3 bajo las mismas condiciones de incubación.</p>		
<p>Si la actividad antimicrobiana del producto con respecto a alguno de los microorganismos de referencia no puede neutralizarse, se asume que el producto no puede contaminarse con el tipo de microorganismo que inhibe.</p>		
<p><b>PRUEBAS DE PRODUCTOS</b></p>		
<p><b>Bacterias Gram negativas bilis tolerantes</b></p>		
<p><b>Preparación y preincubación de la muestra.</b> Preparar una dilución 1:10 del producto de prueba (no menos de 1 g o 1 mL), en caldo soya tripticaseína, mezclar e incubar de 20 a 25 °C por un periodo de 2 a 5 h para permitir la recuperación de las bacterias dañadas debido al proceso de fabricación o al sistema preservativo del producto.</p>		
<p><b>Prueba cualitativa (ausencia).</b> A menos de que en la monografía se especifique alguna otra condición, usar un volumen correspondiente a 1 g o 1 mL del producto (según se indica en <i>Preparación y preincubación de la muestra</i>) para inocular en caldo Mossel de enriquecimiento de</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
enterobacterias, incubar de 30 a 35 °C durante 24 a 48 h. Subcultivar en las placas de agar glucosa rojo violeta bilis e incubar de 30 a 35 °C durante 18 a 24 h.		
El producto cumple la prueba de ausencia si no se observa crecimiento.		
<b>Prueba cuantitativa NMP</b>		
<b>Selección y subcultivo.</b> Inocular el volumen de caldo Mossel de enriquecimiento de enterobacterias determinado en la prueba de aptitud del método, con diluciones que contengan 0.1, 0.01 y 0.001 g o mililitros del producto de prueba. Incubar de 30 a 35 °C durante 24 a 48 h. Subcultivar cada tubo en una placa de Agar glucosa rojo violeta bilis. Incubar de 30 a 35 °C durante 18 a 24 h.		
La presencia de crecimiento constituye un resultado positivo. Determinar en la <i>tabla 0571.5</i> el número más probable de enterobacterias.		

Tabla 0571.5. Interpretación de resultados para calcular el número más probable de enterobacterias.

Resultados de cada cantidad de producto			Número más probable de bacterias (NMP) por gramo o el mililitro del producto
0.1 g o 0.1 mL	0.01 g o 0.01 mL	0.001 g o 0.001 mL	
+	+	+	> 10 <sup>3</sup>
+	+	-	< 10 <sup>3</sup> y > 10 <sup>2</sup>
+	-	-	< 10 <sup>2</sup> y > 10
-	-	-	< 10

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<b><i>Escherichia coli</i></b>		
<b>Preparación y preincubación de la muestra.</b> Preparar una dilución 1:10 del producto de prueba (no menos de 1 g o 1 mL), en 10 mL o la cantidad de caldo soya tripticaseína determinada en la prueba de <i>Aptitud del método</i> , mezclar e incubar de 30 a 35 °C durante 18 a 24 h.		
<b>Selección y subcultivo.</b> Agitar la mezcla, transferir 1 mL del cultivo anterior a 100 mL de caldo MacConkey e incubar de 42 a 44 °C durante 24 a 48 h. Subcultivar en una placa de agar MacConkey de 30 a 35 °C durante 18 a 72 h.		
El crecimiento de colonias bien desarrolladas fermentadoras de la lactosa indica la posible presencia de <i>E. coli</i> , que se confirma por medio de pruebas de identificación.		
El producto cumple la prueba, sí no hay crecimiento o si las pruebas de identificación son negativas.		
<b><i>Salmonella spp</i></b>		
<b>Preparación y preincubación de la muestra.</b> Utilizar no menos de 10 g o 10 mL para inocular la cantidad de caldo soya tripticaseína, determinada en la prueba de <i>Aptitud del método</i> , mezclar e incubar de 30 a 35 °C durante 18 a 24 h.		
<b>Selección y subcultivo.</b> Transferir 0.1 mL del cultivo anterior, a 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis de enriquecimiento para <i>Salmonella</i> , mezclar e incubar de 30 a 35 °C durante 18 a 24 h. Subcultivar en placas de agar xilosa lisina desoxicolato e incubar de 30 a 35 °C durante 18 a 48 h.		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
El crecimiento de colonias bien desarrolladas, rojas, con o sin centro negro indica la posible presencia de <i>Salmonella spp</i> , que se confirma mediante pruebas de identificación.		
El producto cumple con la prueba si las colonias descritas no están presentes o y si las pruebas confirmatorias de la identificación son negativas.		
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>		
<b>Preparación y preincubación de la muestra.</b> Preparar una dilución 1:10 del producto de prueba (no menos de 1 g o 1 mL), en 10 mL o la cantidad de caldo soya tripticaseína determinada en la prueba de <i>Aptitud del método</i> , mezclar e incubar de 30 a 35 °C durante 18 a 24 h.		
Para probar parches transdérmicos, filtrar a través de una membrana estéril el volumen de muestra que corresponde a un parche, preparada como se describe en <i>Preparación de la muestra</i> , inocular la membrana en 100 mL de caldo soya tripticaseína.		
<b>Selección y subcultivo.</b> Resembrar una placa de agar cetrimida e incubar de 30 a 35 °C durante 18 a 72 h.		
El crecimiento de colonias características de color verde indica la posible presencia de <i>P. aeruginosa</i> , que se confirma por pruebas de identificación.		
El producto cumple los requisitos de la prueba si no se presenta crecimiento o si las pruebas de identificación no corresponden.		
<b><i>Burkholderia cepacia</i></b>		
Las pruebas para el complejo <b><i>Burkholderia cepacia</i></b> han sido diseñadas para determinar si una sustancia		



"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>o preparación cumple con las especificaciones establecidas de calidad microbiológica y/o para evaluar si los productos, especialmente aquellos para uso por inhalación o preparaciones acuosas para uso oral, bucal, cutáneo o nasal, contienen miembros de este complejo.</p>		
<p><b>Preparación y preincubación de la muestra.</b> Preparar una dilución 1:10 del producto de prueba (no menos de 1 g o 1 mL), en 10 mL o la cantidad de caldo soya tripticaseína determinada en la prueba de Aptitud del método, mezclar e incubar de 30 a 35 °C durante 48 a 72 h.</p>		
<p><b>Selección y subcultivo.</b> Resembrar una placa de agar selectivo para <i>Burkholderia cepacia</i> e incubar de 30 a 35 °C durante 48 a 72 h.</p>		
<p>El crecimiento de colonias características de color verde marrón con halos de color amarillo o colonias de color blanco rodeadas de una zona de color rosado-rojo, indica la posible presencia del complejo <i>B. cepacia</i>, que se confirma por pruebas de identificación.</p>		
<p>El producto cumple los requisitos de la prueba si no se presenta crecimiento o si las pruebas de identificación no corresponden.</p>		
<p><b><i>Staphylococcus aureus</i></b></p>		
<p><b>Preparación y preincubación de la muestra.</b> Preparar una dilución 1:10, empleando no menos de 1 g o 1 mL del producto en 10 mL o la cantidad de caldo soya tripticaseína determinada en la prueba de Aptitud del método, mezclar e incubar de 30 a 35 °C durante 18 a 24 h.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Para probar parches transdérmicos, filtrar el volumen de muestra que corresponde a un parche, preparada como se describe en <i>Preparación de la muestra</i>, inocular la membrana en 100 mL de caldo soya tripticaseína. Incubar de 30 a 35 °C durante 18 a 24 h.</p>		
<p><b>Selección y subcultivo.</b> Resembrar una placa de agar sal manitol e incubar de 30 a 35 °C durante 18 a 72 h.</p>		
<p>El crecimiento de colonias amarillas/blancas rodeadas por una zona amarilla indica la posible presencia de <i>S. aureus</i>, confirmar con pruebas de identificación.</p>		
<p>El producto cumple los requisitos de la prueba si las colonias descritas no están presentes o si las pruebas que confirman la identificación son negativas.</p>		
<p><b>Clostridia</b></p>		
<p><b>Preparación y tratamiento térmico de la muestra.</b> Preparar el producto de prueba como se describe en <i>Preparación de la muestra</i>, tomar dos porciones iguales de no menos de 1 g o 1 mL del producto, calentar una porción a 80 °C durante 10 min y enfriar rápidamente. La otra porción no se calienta.</p>		
<p><b>Selección y subcultivo.</b> Mezclar y transferir 10 mL de cada una de las porciones a dos envases que contengan 100 mL del medio de enriquecimiento para clostridios. Incubar bajo condiciones anaeróbicas de 30 a 35 °C durante 48 h. Después de la incubación, subcultivar cada tubo en placas</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
de agar Columbia e incubar bajo condiciones anaeróbicas de 30 a 35 °C durante 48 a 72 h.		
La presencia de crecimiento anaeróbico de bacilos con o sin endosporas, catalasa negativa indica la presencia de clostridia.		
Si no se detecta crecimiento de microorganismos anaeróbicos en el agar Columbia o las pruebas de identificación son negativas, el producto cumple los requisitos de la prueba.		
<b>Candida albicans</b>		
<b>Preparación y preincubación de la muestra.</b> Preparar una dilución 1:10, empleando no menos de 1 g o 1 mL del producto en 100 mL de Caldo dextrosa Sabouraud, mezclar e incubar de 30 a 35 °C durante 3 a 5 días.		
<b>Selección y subcultivo.</b> Resembrar una placa de agar dextrosa Sabouraud e incubar de 30 a 35 °C durante 24 a 48 h.		
El crecimiento de colonias blancas sugiere la presencia de <i>C. albicans</i> , que se confirma con pruebas de identificación.		
El producto cumple los requisitos de la prueba si no se presenta crecimiento o si las pruebas de confirmación son negativas.		

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