

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

**COMENTARIOS**

Con fundamento en el numeral 4.11.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2010, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de agosto y hasta el 30 de septiembre de 2020, 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. Fax: 5207 6890

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-FH 0110. ACTIVIDAD HEMOLÍTICA</b></p> <p>Muchas plantas medicinales, especialmente aquellas derivadas de las familias Caryophyllaceae, Araliaceae, Sapindaceae, Primulaceae y Dioscoreaceae contienen saponinas. La principal característica de las saponinas es su habilidad de causar hemólisis cuando es añadida a una suspensión de sangre, las saponinas producen cambios en las membranas de los eritrocitos, causando que la hemoglobina se difunda hacia los medios circundantes.</p> <p>La actividad hemolítica del material vegetal, o una preparación que contiene saponinas es determinada mediante la comparación con aquella de un material de referencia, saponina, la cual tiene una actividad hemolítica de 1 000 unidades por gramo. Una suspensión de eritrocitos es mezclada con volúmenes iguales de una dilución en serie del extracto del material vegetal. La concentración más baja para efectuar la hemólisis completa es determinada después de permitir que las mezclas permanezcan en reposo por un período</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>de tiempo dado. Simultáneamente se lleva a cabo una prueba similar con saponina. Los procedimientos propuestos para la determinación de la actividad hemolítica del material vegetal medicinal se encuentran basados en el mismo principio, aunque los detalles pueden variar un poco, por ejemplo en la fuente de eritrocitos, métodos para la preparación de la suspensión de los eritrocitos y el extracto vegetal que definen la actividad hemolítica de la saponina de referencia y el método experimental. Para obtener resultados confiables, es primordial estandarizar las condiciones experimentales y especialmente determinar la actividad hemolítica por comparación con aquella de la saponina.</p>		
<b>PROCEDIMIENTO</b>		
<p><b>Preparación de la sangre.</b> Colocar en un matraz con tapón de vidrio una décima parte de su volumen de citrato de sodio al 3.65 <del>por ciento</del> % (m/v), agitando para asegurar que el interior del matraz esté completamente humedecido. Introducir el volumen suficiente de sangre recientemente extraída de un buey saludable y agitar inmediatamente. Esta preparación puede ser almacenada hasta por <del>8</del> <b>ocho</b> días a una temperatura entre 2°C y 4 °C.</p>		
<p><b>Suspensión de eritrocitos.</b> Colocar <del>1.0</del> mL de la preparación de la sangre en un matraz volumétrico de 50 mL con SA de fosfatos pH 7.4 y llevar a volumen con cuidado. Esta suspensión (solución al 2 <del>por ciento</del> %) puede ser usada mientras el sobrenadante no muestre señales de hemólisis (que permanezca claro e incoloro). Puede ser almacenado en refrigeración.</p>		
<p><b>Solución de referencia.</b> Transferir aproximadamente 10.0 mg de saponina R, exactamente pesada a un matraz volumétrico de 100 mL y añadir suficiente SA de fosfatos pH 7.4 hasta el aforo. Esta solución deberá ser preparada momentos antes de la prueba.</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice				Debe decir	Justificación*
<p><b>Solución de prueba.</b> El extracto del material vegetal y las diluciones deben ser preparados como se especifican en el procedimiento de prueba para el material vegetal concerniente usando SA de fosfatos pH 7.4.</p>					
<p><b>Prueba preliminar.</b> Preparar una serie de diluciones del extracto del material vegetal con SA de fosfatos pH 7.4 y suspensión de eritrocitos usando cuatro tubos de prueba como se muestra en la siguiente tabla:</p>					
<p><i>Tabla 0110.1.</i> Diluciones del extracto vegetal en la prueba preliminar.</p>					
Tubo No.	Extracto de la planta (mL)	Solución reguladora (mL)	Suspensión de eritrocitos (mL)		
1	0.10	0.90	1.00		
2	0.20	0.80	1.00		
3	0.50	0.50	1.00		
4	1.00	---	1.00		
<p>Tan pronto como los tubos hayan sido preparados, invertirlos suavemente para mezclar, evitando la formación de espuma. Mezclar nuevamente después de 30 min y dejarlos reposar durante 6 h a temperatura ambiente. Examinar los tubos e identificar aquel que haya tenido hemólisis total (solución roja sin eritrocitos en la base del tubo) y proceder como sigue:</p>					
<p>1. Si se observa hemólisis total sólo en el tubo 4, usar el extracto del vegetal directamente para la prueba principal.</p>					
<p>2. Si se observa hemólisis total en los tubos 3 y 4, preparar una dilución del extracto vegetal 1:2 con SA de fosfatos pH 7.4.</p>					
<p>3. Si se observa hemólisis total en los tubos 2, 3 y 4, preparar una dilución del extracto vegetal 1:5 con SA de fosfatos pH 7.4.</p>					
<p>4. Si después de 6 h todos los tubos muestran hemólisis, preparar una dilución del extracto de la planta 1:10 con SA de fosfatos pH 7.4 y realizar</p>					

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*																																								
nuevamente la prueba preliminar como se describió anteriormente.																																										
5. Si no se observa hemólisis total en ninguno de los tubos, repetir la prueba usando el material vegetal más concentrado.																																										
<b>Prueba principal.</b> Preparar una serie de diluciones del extracto vegetal (sin diluir o diluida según se determine en la prueba preliminar), con SA de fosfatos pH 7.4 y la suspensión de eritrocitos (2 <del>por ciento</del> %) como se muestra en la <i>tabla 0110.2</i> .																																										
Llevar a cabo las diluciones y evaluaciones como en la prueba preliminar pero observar los resultados hasta las 24 h. Calcular la cantidad del material de la planta medicinal en gramos, o de la preparación en gramos o mililitros que producen la hemólisis total. Para eliminar el efecto de las variaciones individuales en la resistencia de la suspensión de eritrocitos a las soluciones de saponina, preparar una serie de diluciones de reactivo de saponinas de la misma manera que se describió anteriormente, para el extracto del material vegetal. Calcular la cantidad de reactivo de saponina en gramos que produce hemólisis total.																																										
<i>Tabla 0110.2.</i> Diluciones del extracto vegetal en la prueba principal.																																										
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tubo No.</th> <th>Extracto de la planta (mL)</th> <th>Solución reguladora (mL)</th> <th>Suspensión de eritrocitos 2% G (mL)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td>0.40</td><td>0.60</td><td>1.00</td></tr> <tr><td>2</td><td>0.45</td><td>0.55</td><td>1.00</td></tr> <tr><td>3</td><td>0.50</td><td>0.50</td><td>1.00</td></tr> <tr><td>4</td><td>0.55</td><td>0.45</td><td>1.00</td></tr> <tr><td>5</td><td>0.60</td><td>0.40</td><td>1.00</td></tr> <tr><td>6</td><td>0.65</td><td>0.35</td><td>1.00</td></tr> <tr><td>7</td><td>0.70</td><td>0.30</td><td>1.00</td></tr> <tr><td>8</td><td>0.75</td><td>0.25</td><td>1.00</td></tr> <tr><td>9</td><td>0.80</td><td>0.20</td><td>1.00</td></tr> </tbody> </table>	Tubo No.	Extracto de la planta (mL)	Solución reguladora (mL)	Suspensión de eritrocitos 2% G (mL)	1	0.40	0.60	1.00	2	0.45	0.55	1.00	3	0.50	0.50	1.00	4	0.55	0.45	1.00	5	0.60	0.40	1.00	6	0.65	0.35	1.00	7	0.70	0.30	1.00	8	0.75	0.25	1.00	9	0.80	0.20	1.00		
Tubo No.	Extracto de la planta (mL)	Solución reguladora (mL)	Suspensión de eritrocitos 2% G (mL)																																							
1	0.40	0.60	1.00																																							
2	0.45	0.55	1.00																																							
3	0.50	0.50	1.00																																							
4	0.55	0.45	1.00																																							
5	0.60	0.40	1.00																																							
6	0.65	0.35	1.00																																							
7	0.70	0.30	1.00																																							
8	0.75	0.25	1.00																																							
9	0.80	0.20	1.00																																							

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice				Debe decir	Justificación*
10	0.85	0.15	<del>1.00</del>		
11	<del>0.90</del>	<del>0.10</del>	<del>1.00</del>		
12	0.95	0.05	<del>1.00</del>		
13	<del>1.00</del>	----	<del>1.00</del>		
Calcular la actividad hemolítica del material de la planta medicinal usando la siguiente fórmula:					
$1\ 000 \times \frac{a}{b}$					
Donde:					
1 000= Actividad hemolítica del reactivo de saponina definida en relación <del>a</del> con la sangre de buey.					
<i>a</i> = Cantidad en gramos de reactivo de saponina que produce hemólisis total.					
<i>b</i> = Cantidad en gramos de material vegetal que produce hemólisis total.					

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