

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



COMPROBACION DE LA PRESENCIA DE PROBIOTICOS EN PRODUCTOS
DE USO ORAL

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

JHIMMY ALEXANDER ROSA LAZO
MILAGRO DE LA PAZ ZEPEDA LOBO

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO(A) EN QUIMICA Y FARMACIA

MAYO 2019

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIA GENERAL

MAESTRO CRISTOBAL HERNAN RIOS BENITEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIO

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL CALIFICADOR

ASESORA DE AREA EN: MICROBIOLOGIA

MSc. Coralia de los Ángeles González de Díaz

**ASESORA DE AREA EN: CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACEUTICOS Y COSMETICOS**

Licda. Zeina Ivonne Arévalo de Márquez

DOCENTE ASESORA

MSc. María Evelin Sánchez de Ramos

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, agradezco a DIOS por haberme otorgado una familia maravillosa, quienes han creído en mí siempre dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio, a ti por estar siempre presente en mi vida y nunca dejarme solo y darme la fuerza cada vez que he caído y he necesitado de ti, por tus bendiciones e incondicional amor que me brindas y todo lo que haces por mí.

Gracias a mi familia por bendecirme con mis estudios, por la confianza en mí y todo su apoyo incondicional, por darme ánimos y esperanza en que podía lograr esta meta.

Gracias a mi madre que siempre estuvo allí para mí dándome su apoyo incondicional, así como por su sacrificio y sacarme adelante y hacerme una persona de provecho para la sociedad y enseñarme hacer un hombre de bien. A mi padre por formar a un hombre recto de principios, por enseñarme en camino correcto y por todo su sacrificio junto a mi madre. A mi hermano por ser un ejemplo de lucha de nunca rendirme en mis objetivos y que decir un no puedo no está permitido y que con la ayuda de DIOS todo es posible.

A mi novia la mujer que ha sufrido, luchado y aguantado tantas cosas a mi lado en este duro camino por ayudarme a ser un mejor hombre de lo que era y por ser una palanca esencial para lograr mis metas. A mi abuelo un gran hombre que desde el cielo o donde me esté esperando darle mil gracias por sus consejos, regaños y decirle hasta el cielo si se pudo y perdón por tardar tanto que no pudiste verme llegar a la meta.

A mi compañera de Tesis Milagro de la Paz Zepeda Lobo por toda su paciencia apoyo y amistad que me brindo en este largo camino mil gracias es un camino que sin tu ayuda no hubiera sido posible.

Gracias a nuestra asesora MSc. María Evelin Sánchez de Ramos por todo su apoyo en este largo camino, por su paciencia, consejos y su tiempo muchísimas gracias y que DIOS la colme de bendiciones.

A nuestro jurado calificador MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez, Licda. Zenia Ivonne Arévalo de Márquez. MSc. Coralia González de Díaz, por su apoyo incondicional, paciencia y orientación.

Jhimmy Alexander Rosa Lazo

DEDICATORIA

A DIOS.... a ti Señor, a ti que eres mi DIOS; te exaltare y alabare tu nombre porque has hecho maravillas desde tiempos antiguos, tus planes son fieles y seguros, a ti mi señor que sin tu ayuda nada de esto fuera posible.

A mi madrecita Marta Catalina Lazo Vela de Rosa por todo su amor y sacrificio por mí, las incontables noches de desvelo que la hice pasar y por querer formar un hombre profesional.

A mi padre Efrén Bernabé Rosa Rubio por su apoyo, confianza en mí y tanto sacrificio por mis estudios junto a mi madre.

A mi hermano Edder Geovany Rosa Lazo que ha sido de mis más grandes apoyos e incondicional en todo momento, por estar allí para mí cada vez que lo he necesitado.

A mi hermosa novia Yorleny Jeannette Rivera Beltrán por formar parte de mi vida y llenar mi vida de felicidad y estar siempre allí para mí en las buenas y malas.

A mi compañera Milagro de la Paz Zepeda Lobo, por toda la paciencia, ayuda, comprensión y su amistad que me brindo a lo largo de todo este trayecto.

Jhimmy Alexander Rosa Lazo

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a Dios por haberme dado la capacidad, fortaleza y voluntad para culminar mi carrera.

A mi cuñado Armando Ramírez por siempre animarme para poder llegar hasta el final.

A mis tíos y primos por apoyarme en todo momento animarme cuando ya no quería continuar.

Mis amistades que he conocido a lo largo de mi carrera y mi vida, por las que se fueron, las que aún conservo y por las nuevas, solo queda decirles gracias por el apoyo, preocupaciones y ánimos. ¡SE LES QUIERE!

A la MSc. Cecilia Haydee de Gallardo, que me apoyo en todas las etapas que implicaron el desarrollo de este trabajo de graduación.

Al panel Calificador que hicieron posible la culminación de este proyecto, ya que sin sus correcciones y apoyo no se hubiese llevado a cabo.

A mi compañero de tesis Jhimmy Alexander Rosa Lazo por su paciencia y apoyo a lo largo de este proyecto, te deseo todos los éxitos tanto en tu vida laboral como personal te lo mereces.

Milagro de la Paz Zepeda Lobo

DEDICATORIA

Con mucha satisfacción por haber finalizado este trabajo de investigación y por cumplir una de tantas metas, dedico mis frustraciones, desvelos y tiempo invertido para poder lograrlo a:

Mis padres José Napoleón Zepeda Arévalo y Milagro Argentina lobo de Zepeda por sacrificar sus propias metas y sueños, para darme la oportunidad de un futuro mejor, por darme ánimos y siempre pensar que finalizaría. ¡LO LOGRAMOS!

Mis hermanas Arely del Carmen Zepeda Lobo y Argentina Maricruz Zepeda Lobo por apoyarme y estar siempre a mi lado de una u otra forma y por creer que algún día terminaría mi carrera solo me queda decirles, ¡ES DÍA LLEGO BABY'S!

Mi abuela materna y mi abuelo paterno sé que lo están celebrando desde el cielo, solo decirles perdón por no dárselos en vida pero gracias por su amor y apoyo incondicional, mi abuela paterna gracias por preocuparse y animarme en todo la quiero.

Irma Yaneth Azahar Lam mil gracias por tu amistad, comprensión y decirme que algún día la terminaría ¡ESE DÍA LLEGO! Por esas palabras de aliento cuando ya no podía y por muchas cosas más mil gracias

Y principalmente dedico esto a Dios por bendecirme siempre a lo largo de mi formación academia y mi vida, por todos los favores recibidos durante este tiempo y por siempre guiarme por el camino del bien.

Milagro de la Paz Zepeda Lobo

INDICE GENERAL

	Pág. N°
RESUMEN	
CAPÍTULO I	
1.0 INTRODUCCIÓN	xx
CAPÍTULO II	
2.0 OBJETIVOS	
CAPÍTULO III	
3.0 MARCO TEÓRICO	25
3.1 Historia de los probióticos.	25
3.2 Criterios para la definición de microorganismos que pueden ser considerados como probióticos.	27
3.3 Bacterias ácido lácticas como probióticos.	27
3.4 El género Lactobacillus	28
3.4.1 Características morfológicas.	28
3.4.2 Pares celular y ultra estructura.	29
3.4.3 Características culturales de las colonias.	29
3.4.4 Nutrición y condiciones de crecimiento.	30
3.5 Condiciones de crecimiento.	31
3.5.1 pH.	31
3.5.2 Necesidad de oxígeno.	31
3.5.3 Temperatura de crecimiento.	32
3.5.4 Sensibilidad a antibióticos y drogas.	32
3.6 Interacción de los probióticos con la microflora intestinal.	32
3.7 Efecto de los probióticos sobre la salud.	33
3.8 Efecto de los probióticos en el organismo humano.	34
3.8.1 Trastornos relacionados con el aparato digestivo.	36

3.8.2	Prevención de la diarrea causada por bacterias patógenas y virus.	36
3.8.3	Enfermedad inflamatoria intestinal (IBD).	38
3.8.4	Intolerancia a la lactosa.	39
3.8.5	Gastritis asociada a <i>Helicobacter pylori</i> .	40
3.8.6	Cáncer.	41
3.9	Formulación de probióticos de uso oral	42
3.10	Etiquetado Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04	44
CAPÍTULO IV		
4.0	DISEÑO METODOLÓGICO	47
4.1	Tipo de estudio.	47
4.1.1	Experimental.	47
4.1.2	Transversal.	47
4.2	Investigación bibliográfica.	47
4.3	Investigación de campo.	47
4.3.1	Universo.	48
4.3.2	Muestra.	48
4.4	Parte experimental.	52
4.4.1	Recuento en placa de <i>Lactobacillus spp</i> en productos de uso oral cápsulas, comprimidos masticables y sobres,	52
4.4.2	Procedimiento para realizar frotis bacteriano y tinción al Gram para la identificación de <i>Lactobacillus spp</i> .	52
4.4.3	Estandarización del <i>Lactobacillus rhamnosus</i> WARU™ cepa control.	53
CAPÍTULO V		
5.0	RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	56
5.1	Realizar una descripción de cada uno de los productos seleccionados de acuerdo a la normativa de etiquetado	

Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04.	56
5.2 Hacer un recuento en placa de bacterias ácido lácticas en las muestras seleccionadas en cápsulas, comprimidos masticables y sobres.	62
5.3 Identificar los microorganismos macroscópicamente y microscópicamente en las muestras seleccionadas.	66
5.4 Comparar los microorganismos encontrados en los productos con el estándar <i>Lactobacillus rhamnosus</i> establecido por la organización mundial de la salud.	68
CAPÍTULO VI	
6.0 CONCLUSIONES	71
CAPÍTULO VI	
7.0 RECOMENDACIONES	73
BIBLIOGRAFÍA	
GLOSARIO	
ANEXOS	

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Pág. N°
1. Efectos beneficiosos de bacterias y levaduras probióticas.	35
2. Farmacias, Forma farmacéutica y Nombre de producto de probióticos de uso oral.	49
3. Presentación farmacéutica, usos y dosis para las diferentes muestras de probióticos de uso oral.	50
4. Probióticos que rotulan y cantidad en gramos que presenta cada forma farmacéutica.	51
5. Descripción de etiquetado del envase / empaque primario para cápsulas y comprimidos masticables.	57
6. Descripción de etiquetado / empaque secundario para cápsulas y comprimidos masticables.	58
7. Descripción de etiquetado / empaque primario para sobres.	59
8. Descripción de etiquetado / empaque secundario para sobres.	60

INDICE DE FIGURAS

Figuras N°	Pág. N°
1. Ubicación de las farmacias que se encuentran en la Colonia médica	
2. Grafica de recuento en placa en muestras de cápsulas.	63
3. Grafica de recuento en placa en muestras de comprimidos masticables.	64
4. Grafica de recuento en placa en muestras de sobres.	65
5. Estándar de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> macroscópicamente y microscópicamente.	66
6. Muestras de cápsulas macroscópicamente y microscópicamente.	66
7. Muestras de comprimidos masticables macroscópicamente y microscópicamente.	67
8. Muestras de sobres macroscópicamente y microscópicamente.	67

INDICE DE TABLAS

Tabla N°	Pág. N°
1. Resultados de probióticos en presencia de cápsulas, comprimidos masticable y sobres que se comercializan en las farmacias de la colonia médica, obtenidos por medio de una hoja de cotejo.	48
2. Recuento en placa en muestras de cápsulas.	62
3. Recuento en placa en muestras de comprimidos masticables.	63
4. Recuento en placa en muestras de sobres.	64

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

1. Hoja de cotejo.
2. Carta dirigida a los encargados de la farmacia.
3. Significado de la codificación de las farmacias ubicadas en la colonia médica.
4. Mapa de ubicación de las farmacias que se encuentran en la colonia médica.
5. Rango comprendido según La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (FAO/ OMS) para ser considerado como probiótico.
6. Modelo de etiqueta para identificar las muestras de Cápsulas, Comprimidos masticables y Sobres, recolectadas en las farmacias de la Colonia Médica.
7. Empaque secundario de cápsulas, comprimidos masticables y sobres.
8. Recuento en placa de bacterias ácido lácticas en productos de uso oral cápsulas, comprimidos masticables y sobres.
9. Procedimiento para realizar frotis bacteriano y tinción al Gram para la identificación de *Lctobacillus spp.*

10. Estandarización de *Lactobacillus rhamnosus* WARU™

11. Preparación de medios de cultivo.

RESUMEN

Los probióticos constituyen nutrientes fundamentales, de los cuales no son más que microorganismos vivos que se incorporan en diferentes medicamentos, que pueden ayudar a disminuir problemas como trastornos relacionados al aparato digestivo, diarreas causadas por bacterias patógenas, gastritis asociada a *Helicobacter pylori*, entre otras.

El objetivo principal de esta investigación fue comprobar la presencia de probióticos en productos de uso oral, comercializados en las diferentes farmacias ubicadas en la Colonia Médica de San Salvador, en las presentaciones de cápsulas, comprimidos masticables y sobres.

Para la recolección de la muestra se utilizó una hoja de cotejo, que se aplicó para la identificación de los probióticos comercializados en cada una de las 16 farmacias en estudio, obteniendo un total de 24 muestras.

Se realizó una descripción de cada uno de los productos con la normativa de etiquetado Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04 Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano. Así mismo un recuento en placa de bacterias ácido lácticas, también una identificación de los microorganismos tanto a nivel macroscópico como microscópico de las presentaciones de cápsulas, comprimidos masticables y sobres, se comparó con el estándar de referencia *Lactobacillus rhamnosus*.

Obteniéndose los siguientes resultados: para las muestras de cápsulas su crecimiento en placa fue de 1.5×10^3 UFC/mL, las de comprimidos masticables su crecimiento fue de 1.3×10^3 UFC/mL y las de sobres de 1.9×10^3 UFC/mL.

En las tres presentaciones el crecimiento en placa fue inferior al rango que establece la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) de 10^6 a 10^9 UFC. Para ser considerado como probiótico y ejercer un efecto positivo para el consumidor.

Se recomiendan nuevas investigaciones con diferentes marcas y presentaciones de probióticos, para poder confirmar si contiene la cantidad que especifica en los productos.

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigaciones y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, durante el periodo de 2017 al 2019.

CAPITULO I

INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

Los cultivos probióticos tienen una gran importancia a nivel mundial, debido a que mediante numerosos estudios, se ha podido demostrar varios efectos beneficiosos para el ser humano, como el favorecimiento del equilibrio de la microflora intestinal, estimulación del sistema inmune, competencia contra patógeno, entre otros.

Los problemas gastrointestinales relacionados al consumo de alimentos tratados con malas prácticas de higiene y debido a que no se conoce el efecto beneficioso que aportan los *Lactobacillus* sobre bacterias patógenas, es necesario dar a conocer a la población los beneficios positivos que puede aportar el consumo de probióticos en presentaciones de cápsulas, comprimidos masticables y sobres, en este trabajo de investigación se logró determinar la comprobación de la presencia de probióticos en productos de uso oral.

Para ello se verifico la información que contenía tanto los empaques primarios como empaque secundario de cápsulas, comprimidos masticables y sobres comparándolo con lo que establece el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04, Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano. Luego se realizó un recuento en placa para las muestras de cápsulas, comprimidos masticables y sobres, que permitió conocer la cantidad de probióticos presentes en las muestras comparándolo con el estándar de referencia *Lactobacillus rhamnosus* a una concentración de 10^8 UFC/mL para saber si se encontraban dentro del rango que establece la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS).

También se identificaron las muestras a nivel macroscópico y microscópico comparándolos con las características del estándar patrón *Lactobacillus rhamnosus*, para conocer si estaba presente en las muestras.

Dicha investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, durante el periodo de 2017 al 2019.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Comprobar la presencia de probióticos en productos de uso oral.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

2.2.1 Realizar una descripción de cada producto seleccionado de acuerdo a la normativa de etiquetado Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04 Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano.

2.2.2 Hacer un recuento en placa de bacterias ácido lácticas en las muestras seleccionadas en cápsulas, comprimidos masticables y sobres.

2.2.3 Identificar los microorganismos macroscópicamente y microscópicamente en las muestras seleccionadas.

2.2.4 Comparar los microorganismos encontrados en los productos con el estándar *Lactobacillus rhamnosus* establecido por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud. (FAO/OMS).

CAPITULO III

MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

Los microorganismos intestinales llevan a cabo una multitud de reacciones bioquímicas y pueden ser consideradas de forma colectiva como metabólicamente activos. Sin embargo, el papel de dichos microorganismos del intestino en la fisiología humana fue subestimado en gran medida hasta la década de 1980 por varias razones: ⁽³⁾

En primer lugar, porque sólo una pequeña fracción de bacterias podría ser cultivada, y por lo tanto el papel y la taxonomía de miles de millones de bacterias eran desconocidos. Por otra parte, el interés en el papel metabólico de la bacteria se centró principalmente en su potencial para fermentar los alimentos y producir toxinas. Como consecuencia, la investigación médica se dedicó principalmente a abordar cómo luchar contra los microorganismos patógenos para evitar una epidemia mundial o para gestionar infecciones responsables de enfermedades graves y la mortalidad. ⁽³⁾

Estos puntos de vista han cambiado en las últimas décadas. La microbiota intestinal se ha revisado de manera más positiva, con el concepto de probióticos, basado en el argumento de que algunas bacterias actúan positivamente sobre la salud del hospedero. Lo que afectó claramente dicha evolución del estudio de los microorganismos en el intestino. ⁽³⁾

3.1 Historia de los probióticos. ⁽⁶⁾

El término probiótico es una palabra que significa “a favor de la vida” y actualmente se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos y los animales. La observación original de la función positiva desempeñada por algunas bacterias se atribuye a Eli

Metchnikoff, un científico Ruso galardonado con el premio Nobel por sus trabajos en el Instituto Pasteur a comienzos del siglo pasado (1907) afirmó que la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los alimentos hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles.

Para entonces el pediatra francés Henry Tissier observó que los niños con diarrea tenían en sus heces un escaso número de bacterias caracterizadas por una morfología peculiar en forma de Y. Estas bacterias "bífidas" eran, por el contrario, abundantes en los niños sanos.

Sugirió la posibilidad de administrar estas bacterias a pacientes con diarrea para facilitar el restablecimiento de una flora intestinal sana. Las obras de Metchnikoff y Tissier fueron las primeras en las que se hicieron propuestas científicas con respecto a la utilización probiótica de bacterias, aun cuando la palabra "probiótico" no se usó hasta 1960, para designar las sustancias producidas por microorganismos que promovían el crecimiento de otros microorganismos.

En la actualidad el uso de los cultivos de cepas probióticas ha tenido una mayor participación en la industria de alimentos y día con día en la industria farmacéutica, ya que con el paso del tiempo se ha demostrado con estudios los efectos beneficiosos para la salud del ser humano y animales, también se ha encontrado que tienen un gran número de propiedades para implementar su uso en salud y en investigaciones clínicas. Algunos de los efectos benéficos atribuidos son el favorecimiento del equilibrio de la microflora intestinal, estimulación del sistema inmune, competencia contra patógenos. ⁽²¹⁾

En los últimos años se han realizado investigaciones enfocadas en introducir especies bacterianas beneficiosas para restablecer el equilibrio de la flora intestinal y prevenir enfermedades. Basado en ello surge así el interés de incorporar microorganismos probióticos en la industria alimentaria así como en la industria farmacéutica. ⁽²⁰⁾

3.2 Criterios para la definición de microorganismos que pueden ser considerados como probióticos. ⁽⁶⁾

- Ser de naturaleza no patógena.
- Ser resistente a la destrucción por procesamiento.
- Ser resistente a la destrucción por ácido gástrico o biliar.
- Capacidad de adhesión a las superficies epiteliales.
- Sobrevivir en ecosistema intestinal.
- Ser capaz de colonizar el tracto gastrointestinal, incluso por un corto tiempo.
- Producir sustancias antimicrobianas.
- Modular respuestas inmunes.
- Permanecer vivas y estables durante su empleo.
- Influenciar actividades metabólicas humanas.

Entre los principales géneros utilizados en la industria de alimentos como probióticos se encuentran especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. ⁽¹¹⁾ Para proporcionar beneficios para la salud, la concentración sugerida para las bacterias probióticos es de $10^6 - 10^9$ UFC/g. ⁽¹¹⁾

3.3 Bacterias ácido lácticas como probióticos.

Estos microorganismos previenen normalmente el desarrollo de infecciones y poseen un efecto positivo sobre la nutrición. Cualquier modificación brusca en la dieta, el estrés o la mala administración de antibióticos altera el equilibrio microbiano, dejando a la persona susceptible de padecer enfermedades y disminuyendo la eficiencia de la nutrición. ⁽¹⁹⁾

Los probióticos al ser ingeridos en cantidades suficientes y estar viables en el organismo tienen el efecto de contribuir al equilibrio de la flora bacteriana intestinal y favorecer el sistema inmunitario del huésped. ⁽⁷⁾

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) definen la palabra probióticos como: “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades apropiadas, confieren al huésped un beneficio para la salud”. ⁽¹⁶⁾

3.4 El género *Lactobacillus*.

3.4.1 Caracteres morfológicos. ⁽¹³⁾

El género *Lactobacillus* (lactis-leche; bacillus-pequeños bacilos) se caracteriza por presentar células en forma de bacilos largos y extendidos, aunque con frecuencia pueden observarse bacilos cortos o coco-bacilos corineformes, lo cual hace que se puedan confundir con géneros aislados habitualmente de materiales clínicos. Estos bacilos se presentan comúnmente formando cadenas y en general son no móviles, pero cuando tienen motilidad es por la presencia de flagelación permitida. Son Gram positivos y sólo las células muertas pueden dar resultados variables a la tinción de Gram. Además, no esporulan y algunas cepas presentan cuerpos bipolares que probablemente contengan polifosfato.

Los grandes bacilos homofermentativo presentan gránulos internos revelados por tinción de Gram o por tinción con azul de metileno.

3.4.2 Pared celular y ultra estructura. ⁽¹³⁾

La pared celular de los lactobacilos, observada al microscopio electrónico es típicamente Gram positiva y contiene peptidoglicanos (mureínas) de varios quimiotipos, de ahí que el peptidoglicano del tipo Lisina-D-Asparagina sea el más ampliamente distribuido. Esta pared también contiene polisacáridos unidos al peptidoglicano mediante enlaces fosfodiéster, pero sólo presenta ácidos teicoicos relacionados a ella en algunas especies. También pueden apreciarse al microscopio electrónico grandes mesosomas que caracterizan a este género.

3.4.3 Caracteres culturales y de las colonias. ⁽¹³⁾

Las colonias de *Lactobacillus* en medios sólidos son pequeñas (2-5 mm), convexas, suaves, con márgenes enteros, opacas y sin pigmentos. Sólo en algunos casos presentan coloración amarillenta o rojiza. Algunas especies forman colonias rugosas, otras, como *Lactobacillus confusus*, presentan colonias viscosas por excepción. Generalmente no presentan actividad proteolítica ni lipolítica que pueda apreciarse mediante halos claros formados en medios sólidos que contengan proteínas o grasas. Sin embargo, muchas cepas presentan ligera actividad proteolítica debido a proteasas y peptidasas ligadas a la pared celular o liberadas por ésta, así como una débil actividad lipolítica debido a la acción de lipasas intracelulares.

Normalmente no reducen los nitratos, pero esta reacción puede ocurrir en algunos casos, cuando el pH está por encima de 6.0. Los lactobacilos no licúan la gelatina ni digieren la caseína, aunque muchas cepas producen pequeñas

cantidades de nitrógeno soluble. Tampoco producen indol ni ácido sulfídrico (H_2S). Son catalasa negativos, pero algunas cepas producen la enzima pseudocatalasa que descompone el peróxido de hidrógeno. Son citocromo negativos, por la ausencia de porfirinas; presentan una reacción bencidina negativa. La producción de pigmentos por estas bacterias es rara y cuando ocurre, éstos pueden ser de color amarillo o naranja hacia un tono ferroso o rojizo. Su crecimiento en medio líquido se presenta a través de éste, aunque sus células precipitan rápidamente después que el crecimiento cesa; dando lugar a un sedimento suave y homogéneo, sin formación de películas. En raras ocasiones este sedimento es granular o viscoso. Los lactobacilos no desarrollan olores típicos al crecer en medios comunes, pero contribuyen a modificar el sabor de alimentos fermentados, produciendo compuestos volátiles como diacetilo y sus derivados y hasta sulfuro de hidrógeno (H_2S) y aminas en el queso.

3.4.4 Nutrición y condiciones de crecimiento. ⁽¹³⁾

Los lactobacilos presentan particularidades para cada especie respecto a los requerimientos nutricionales complejos para los aminoácidos, péptidos, derivados de ácidos nucleicos, vitaminas, sales, ácidos grasos o ésteres de ácidos grasos y carbohidratos fermentables. Requieren no sólo carbohidratos como fuentes de carbono y energía, sino también: aminoácidos, vitaminas y nucleótidos. Generalmente estos requerimientos variados suelen suplirse cuando el medio de cultivo de los lactobacilos contiene carbohidratos fermentables, peptona, extracto de carne y extracto de levadura, aunque una suplementación con jugo de tomate, manganeso, acetato y ésteres del ácido oleico, especialmente Tween 80, resulta estimulador y hasta esencial para muchas especies. Por eso, estos compuestos se incluyen en el medio MRS.

Existen especies que se adaptan a sustratos muy particulares y necesitan factores de crecimiento especiales. Debido a que las bacterias ácido lácticas (BAL) poseen requerimientos nutricionales y de crecimiento similares; su clasificación se ha tornado difícil por los métodos microbiológicos tradicionales. El uso de pruebas moleculares, basadas en secuencias de ADN ribosomal, para identificar las bacterias aisladas de su ambiente natural, fue informado por Tannock. Debido a la alta variabilidad de esta región entre especies, se emplea desde hace algunos años un método eficiente para la identificación y detección específica de bacterias ácido lácticas probióticas, el cual resulta útil para una mejor caracterización de las mismas, denominado PCR.

3.5 Condiciones de crecimiento.

3.5.1 pH. ⁽¹³⁾

Los lactobacilos crecen bien en medio ligeramente ácidos, con pH inicial de 6,4-4.5 y con uno óptimo de desarrollo entre 5.5 y 6.2. Su crecimiento cesa cuando el pH alcanza valores desde 4 hasta 3.6 en dependencia de especies y cepas y disminuye notablemente en medios neutros o ligeramente alcalinos. Los lactobacilos son capaces de disminuir el pH del sustrato donde se encuentran por debajo del valor 4.0 mediante la formación de ácido láctico. De esta forma evitan o al menos disminuyen considerablemente el crecimiento de casi todos los otros microorganismos competidores, exceptuando el de otras bacterias lácticas y el de las levaduras.

3.5.2 Necesidades de oxígeno. ⁽¹³⁾

La mayoría de las cepas de *Lactobacillus* son principalmente aerotolerantes; su crecimiento óptimo se alcanza bajo condiciones microaerofilicas o anaeróbicas

y se conoce que un incremento de la concentración de CO₂ (de aproximadamente 5% o hasta el 10%) puede estimular el crecimiento, sobre todo en el caso del crecimiento superficial sobre medios sólidos.

3.5.3 Temperatura de crecimiento. ⁽¹³⁾

La mayor parte de los lactobacilos son mesófilos (30-40%), con un límite superior de 40°C. Aunque su rango de temperatura para el crecimiento oscila entre 2 y 53°C, algunos crecen por debajo de 15°C y hay cepas que crecen por debajo de 5°C. Otros crecen a temperaturas bajas, cercanas al punto de congelación.

Los llamados lactobacilos “termófilos” pueden tener un límite superior de temperatura de 55°C y no crecen por debajo de 15°C. Aún no se conocen los verdaderos lactobacilos termófilos que crezcan por encima de 55°C.

3.5.4 Sensibilidad a antibióticos y drogas. ⁽¹³⁾

Los lactobacilos son sensibles ante la mayoría de los antibióticos activos contra las bacterias Gram-positivas. Se ha podido estudiar la sensibilidad de los lactobacilos intestinales ante antibióticos empleados como aditivos alimenticios⁽⁴⁾. La resistencia a la bilis es también una propiedad importante a tener en cuenta para la colonización del intestino por los lactobacilos y se ha estudiado principalmente en el caso de *Lactobacillus acidophilus*.

3.6 Interacción de los probióticos con la microflora intestinal. ⁽⁴⁾

La microflora del intestino humano es un ecosistema complejo en cuanto a la cantidad y variedad de microorganismos, así como en su gran capacidad para

influir en el estado de salud del individuo. Entre las funciones de la microbiota intestinal cabe destacar: Capacidades metabólicas, que incluyen degradación de material no digerible de la dieta y regulación del almacenamiento de energía, síntesis de vitaminas esenciales y aumento de absorción de minerales, protección frente a agentes infecciosos y a la proliferación de especies microbianas con potencial patógeno y diferenciación del epitelio intestinal y modulación del sistema inmune. Los probióticos pueden ejercer efectos beneficiosos en la salud modulando la composición de la microbiota intestinal, mediante inhibición de patógenos (producción de ácidos orgánicos, bacteriocinas, competición por sitios de unión epiteliales y por nutrientes) o favoreciendo la presencia y diversidad de los grupos microbianos considerados como beneficiosos dentro del ecosistema intestinal.

3.7 Efecto de los probióticos sobre la salud. ⁽²⁴⁾

Los probióticos ejercen acciones diversas sobre la salud mediante distintos mecanismos de acción: mejoran el equilibrio de la flora intestinal ya que se unen competitivamente a los receptores intestinales de forma que mantienen el equilibrio de la flora intestinal, actúan acidificando la luz intestinal, segregando sustancias que inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos por medio de la producción de ácidos orgánicos, bacteriocinas, entre otros, compitiendo por nutrientes y por sitio de unión epiteliales en el intestino.

Los probióticos al ser consumidos tanto por humanos como animales, sobreviven al paso por el tracto gastrointestinal y se implantan en el intestino delgado favoreciendo la salud del huésped.

Los probióticos se instalan en la mucosa del intestino y ahí producen las sustancias inhibitorias que combaten la acción de bacterias toxígenas, por lo tanto esta población microbiana, representa un potencial metabólico importante

que no solo mantienen los procesos de digestión sino que también actúa sobre los procesos de destoxificación, llevados a cabo en el intestino, además de la estimulación del sistema inmunológico.

Son también conocidos como bioterapéuticos, bioprotectores o bioprolácticos y se utilizan para prevenir las infecciones entéricas y gastrointestinales.

3.8 Efecto de los probióticos en el organismo humano. ⁽¹³⁾

Debido al ritmo de vida acelerado en la población principalmente en las grandes ciudades, factores como el estrés, una dieta desequilibrada, la administración frecuente de antibióticos o la presencia de agentes infecciosos tales como *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* y virus, la incidencia de enfermedades ha ido en aumento; entre las más comunes están las infecciones del tracto gastrointestinal, estreñimiento, síndrome de colon irritable, colitis, alergias causadas por alimentos, diarrea ocasionada por ciertos antibióticos, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (cáncer en colon). Estos desordenes se han tratado de remediar suministrando antibióticos, incluso se han empleado agentes vivos denominados bioterapéuticos como la levadura *Saccharomyces sp.*, y bacterias probióticas como *Lactobacillus spp.*

Actualmente, se sabe que los principales microorganismos que tienen efecto probiótico son los lactobacilos y las bifidobacterias, además, se han incluido especies que pertenecen a los géneros *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Saccharomyces*, *Propionibacterium* y *Streptococcus thermophilus*. La viabilidad de los probióticos puede ser considerada como una medida de su actividad probiótica, sin embargo, hay eventos en los cuales la viabilidad celular no se requiere para llevar a cabo algunas funciones de actividad probiótica, tales

como mejorar la digestión de la lactosa, modular el sistema inmune y cierto efecto contra hipertensión.

En el cuadro N° 1, se presentan algunos microorganismos probióticos y levaduras con efectos probados clínicamente.

Cuadro N° 1 Efectos benéfico de bacterias y levaduras probióticas. ⁽¹³⁾

CEPA	Efecto reportado en estudios clínicos
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LC1	Mejora el sistema inmune, se adhiere a células intestinales humanas y ayuda en el equilibrio de la microflora intestinal.
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFO1748	Disminuye la presencia de enzimas fecales, previene la diarrea causada por radioterapia, usado en tratamiento de estreñimiento.
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Trata y previene el rotavirus en diarrea, previene la diarrea aguda, efecto antagónico contra bacterias cancerígenas.
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Previene problemas intestinales, reduce enzimas fecales, inhibe el cáncer de vejiga, contribuye en el balance de la microflora intestinal.
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Reduce enzimas fecales, sobrevive en el tracto digestivo.
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Tratamiento de rotavirus de diarrea, contribuye en el balance de la microflora intestinal, auxiliar en el tratamiento de diarrea viral.
<i>Sacharomyces boulardii</i>	Previene diarrea ocasionada por <i>Clostridium difficile</i> .

3.8.1 Trastornos relacionados con el aparato digestivo. ⁽²⁵⁾

Los probióticos pueden constituir un medio importante para reducir estos problemas. Hay que tener presente que hoy en día utilizan probióticos administrados en otra presentación y cada vez van siendo utilizados en diferentes presentaciones farmacéuticas.

Los probióticos son microorganismos con muchas propiedades que hace beneficiosos para su aplicación en el aparato digestivo o sistema gastrointestinal. Por su capacidad de resistir el pH ácido del estómago, las enzimas pancreáticas y las sales biliares. Debido a su capacidad de adhesión al epitelio intestinal, pueden ayudar hacer más resistibles los daños producidos en las paredes intestinales así como también facilitar la exclusión de patógenos.

Entre los mecanismos de acción de los microorganismos probióticos dirigidos al control de patógenos intestinales incluyen: estimulación del sistema inmune, competición por los receptores o sitios de adhesión y los nutrientes y factores de crecimiento, cambios en el pH del medio debido a la producción de ácidos orgánicos por parte de las bacterias probióticas, secreción de componentes antimicrobianos como las bacteriocinas.

Las aplicaciones de mayor interés incluyen uso en la enfermedad inflamatoria intestinal (IBD) o en el cáncer, dada la rápida evolución que estas enfermedades presentan en la sociedad actual.

3.8.2 Prevención de la diarrea causada por bacterias patógenas y virus. ⁽⁵⁾

La diarrea infecciosa es un importante problema mundial de salud, que causa varios millones de muertes cada año. Aunque la mayoría de las muertes se

producen entre niños de países en desarrollo como el nuestro, se estima que la diarrea transmitida por los alimentos afecta cada año hasta el 30 por ciento de la población, incluso en los países desarrollados.

La diarrea se define como un síndrome caracterizado por un incremento en la frecuencia, el peso y/o el contenido de aguas en las heces. De forma general, se trata de una respuesta inespecífica del intestino ante diferentes situaciones, incluyendo la presencia en el lumen intestinal de toxinas o microorganismos patógenos (diarrea del viajero, infección intestinal por Rotavirus y toxiinfecciones alimentarias).

Entre los efectos más documentados de los probióticos se encuentra la prevención y tratamiento de la diarrea de diversas etiologías, entre las que se incluyen: la diarrea infecciosa, asociada a tratamiento antibiótico o del viajero.

La infección por los rotavirus es una causa muy común de diarrea infantil y se ha demostrado mediante numerosos estudios clínicos que diferentes probióticos, incluyendo *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus GG* y *Lactobacillus reuteri*, son efectivos tanto en el tratamiento como en la prevención de este tipo de diarrea.

La diarrea asociada a antibióticos es una inflamación aguda de la mucosa intestinal causada por la administración de antibióticos de amplio espectro. El agente etiológico más común asociado a este tipo de diarrea es *Clostridium difficile*, organismo indígena de la microbiota intestinal que normalmente se encuentra en número reducido, sin embargo, tras un tratamiento de antibiótico que afecte el equilibrio normal de la microbiota, puede aumentar su concentración considerablemente y la concomitante producción de toxina, lo que causa la diarrea por lo que el uso de probióticos en este tipo de diarrea

mediante estudios ha comprobados que reduce este tipo de diarrea en un 52%, efecto beneficioso que también se ha demostrado en la diarrea del viajero, en donde el riesgo de padecerla se redujo, además todas la cepas evaluadas como probióticas tanto individuales como en combinación han mostrado efectos similares.

3.8.3 Enfermedad inflamatoria intestinal (IBD).⁽¹⁷⁾

Esta es una afección crónica que causa inflamación en el tubo o las paredes del tracto gastrointestinal. Esta puede provocar úlceras que sangran, dolor abdominal y diarrea, entre otros síntomas.

Los tipos más comunes de la enfermedad inflamatoria intestinal son la colitis ulcerosa o UC (ulcerative colitis), en que la inflamación localizada en las capas superiores de la pared del intestino grueso o colon, y la enfermedad de Crohn o CD (Crohn's disease), cuya inflamación es más profunda, pudiendo producirse en cualquier sección del tubo digestivo, desde la boca hasta el ano. Aunque ambas producen inflamación, la UC es una respuesta inmune tipo th-2 con una producción predominante de citoquinas inflamatorias, mientras que la CD es predominante una respuesta th-1. Ambas enfermedades son crónicas presentan periodos de remisión y recaídas y su etiología aun es desconocida.

La microbiota intestinal juega un papel importante en los periodos inflamatorios de la enfermedad, en cuyo caso un tratamiento probiótico podría remediar la inflamación a través de su interacción con la microbiota autóctona.

Para explicar el posible efecto antiinflamatorio intestinal de los probióticos se han puesto la participación de mecanismos, entre los que se incluye:

- Competición con las bacterias nocivas por el sitio de fijación al epitelio. *Escherichia coli* Nissle 1917 es capaz de reducir la invasión de *Escherichia coli* enteroinvasivo en un 97%. La fijación de bacterias al epitelio intestinal hace que se vea disminuida la permeabilidad intestinal, lo que impide el paso de antígenos luminales a la lámina propia.
- Inhibición del crecimiento de bacterias patógenas y/o inducción de su muerte mediante la producción de compuestos antibacterianos o la reducción del pH.
- Producción de nutrientes importantes para la función intestinal. Se ha postulado que la deficiencia de ácidos grasos de cadena corta puede estar relacionada con la aparición de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) y los probióticos, gracias a su actividad metabólica, pueden revertir esta situación.
- Modulación de la respuesta inmune de la mucosa del hospedador.

3.8.4 Intolerancia a la lactosa. ⁽¹⁾

El término intolerancia a la lactosa hace referencia a la incapacidad de digerir cantidades significativas de lactosa. Alrededor del 70% de la población son mal absorbedores de la lactosa. Durante la digestión, la lactosa es hidrolizada por la enzima lactasa (β -galactosidasa) en el borde de cepillo de la membrana de la mucosa del intestino delgado, descomponiéndola en glucosa y galactosa, las cuales se absorben y pasan a la sangre. Aquellos individuos que poseen intolerancia a la lactosa sufren de hipolactasia, es decir, la enzima lactasa presenta una actividad un 10% inferior a la que tiene durante la infancia, y esta hipolactasia va a estar por tanto asociada a una mal digestión de la lactosa.

Tanto la hipolactasia como la mal absorción de la lactosa van acompañados de síntomas clínicos que son designados como intolerancia a la lactosa. Estos síntomas son: hinchazón, flatulencia, náuseas, dolor abdominal y diarrea, causados porque la lactosa no digerida es fermentada por bacterias intestinales, produciendo un incremento de la presión osmótica en el lumen que produce un aumento del flujo de entrada de agua. Estos síntomas aparecen entre 30 min y 2 horas tras la ingestión de alimentos con contenido en lactosa. La eficacia de los probióticos en el tratamiento de los signos y síntomas que acompañan a la intolerancia de la lactosa vendría dada por: ⁽¹²⁾

- Un incremento de la actividad lactasa en el intestino delgado por parte de las bacterias productoras de ácido láctico.
- La fermentación de azúcares, principalmente lactosa, en ácidos orgánicos como el ácido láctico y el acético. Así, en pacientes con deficiencia de lactasa el proceso de digestión de la leche se desarrolla perfectamente al consumir probióticos ayudando así la digestión de lactosa.

3.8.5 Gastritis asociada a *Helicobacter pylori*. ^{(14) (21)}

Estudios *in vitro* y ensayos en modelos de experimentación revelan la capacidad que poseen las bacterias del ácido láctico de inhibir el crecimiento de *Helicobacter pylori*, patógeno Gram negativo responsable de la gastritis crónica, úlcera péptica que incrementa el riesgo de padecer cáncer gástrico.

Además son capaces de inhibir la actividad ureasa de esta bacteria, necesaria para su supervivencia en el pH gástrico. En estudios *in vivo* en animales y humanos, los microorganismos probióticos no son capaces de erradicar a este

microorganismo, pero si son capaces de reducir la carga microbiana y la inflamación. De hecho, tras una intervención con *Lactobacillus casei* Shirota en pacientes infectados con *Helicobacter pylori* durante 6 semanas la actividad ureolitica se redujo en un 64%, mientras que el grupo placebo solo redujo esta actividad en un 33%. De manera similar, la ingesta regular de probióticos conteniendo ya sea *Bifidobacterium animalis* Bb12 y *Lactobacillus acidophilus* suprime la infección por *Helicobacter pylori* en humanos.

3.8.6 Cáncer. ⁽⁸⁾

En países desarrollados, el cáncer colorrectal es el segundo en frecuencia entre las mujeres (tras el cáncer de mama) y el tercero entre los hombres (tras los tumores de pulmón y próstata), con aproximadamente un millón de nuevos casos al año en todo el mundo. Son numerosos los factores que pueden promover la aparición de este tipo de cáncer, si bien aproximadamente el 70% de los canceres de colon y recto están asociados a factores ambientales, fundamentalmente a la dieta. Un papel destacado es desempeñado por la generación en el lumen intestinal de sustancias carcinógenas tras el metabolismo de algunos microorganismos que forman parte de la flora microbiana del tracto gastrointestinal.

Actualmente se conocen los mecanismos específicos por los que los probióticos pueden ejercer un efecto beneficioso frente al cáncer colorrectal.

Diversos estudios *in vitro*, han permitido postular distintos mecanismos.

- Unión o adsorción de carcinógenos (aminas heterocíclicas, aflatoxina B1 y benzopirenos), disminuyendo el riesgo de mutagenicidad que estos compuestos pueden inducir.

- Inhibición en la producción de metabolitos potencialmente carcinógenos, bien porque facilitan los procesos reductores de este tipo de metabolitos que pueden ser generados por algunas especies bacterianas de lumen intestinal, o bien porque inhiben las enzimas bacterianas que se supone que están implicadas en la síntesis o activación de carcinógenos, mûgatenos y otros promotores de tumores (α -glucuronidasa, β -glucuronidasa, nitrato-reductasas y amoniaco).
- Estimulación de las enzimas del huésped implicadas en la inactivación de compuestos pro-cancerígenos, y que participan en los mecanismos de protección celular frente a la lesión inducida por carcinógenos.
- Alteración de la apoptosis (muerte celular programada) e inhibición de la proliferación celular descontrolada.
- Modulación de la respuesta inmunológica/inflamatoria, que se ha descrito que se encuentra alterada en procesos tumorales.

3.9 Formulación de Probióticos de uso oral. ⁽²²⁾

Es la parte más importante para poder obtener un medicamento, en este se presentan los componentes fundamentales o básicos que debe contener una presentación de uso oral.

Principio activo: componente que ejerce las cualidades farmacológicas, que permite prevenir, tratar o curar una enfermedad.

Diluyentes: sustancias con función de relleno, sin actividad farmacológica, utilizadas para alcanzar el tamaño.

Absorbentes: tienden a fijar moléculas de agua que solubilizan el principio activo, como la lactosa, el almidón.

Aglutinantes: sustancias que se unen a las partículas entre sí, cuando la mera presión no basta para mantenerlas agrupadas en gránulos, utilizada para la fabricación de tabletas.

Lubricantes: o llamados agentes de fricción, su función principal es reducir o eliminar la fricción entre la mezcla para comprimir la superficie de las matrices y los punzones utilizados en la fabricación de tabletas.

Desintegrante: utilizado para disgregar el principio activo en el agua y los jugos digestivos, facilitando así su disolución y absorción.

Comprimidos:

Los comprimidos son preparaciones sólidas, cada uno de los cuales contiene una unidad de dosificación de uno o más principios activos. Se obtienen aglomerados por compresión un volumen constante de partículas y están destinados a la administración por vía oral. Algunos comprimidos se ingieren enteros, otros masticados, otros se disuelven o dispersan en agua antes de su administración y otros deben permanecer en la boca para liberar allí el principio activo.

Son generalmente cilindros compactos cuyos extremos son planos o convexos y cuyos bordes pueden ser biselados. Pueden llevar hendiduras para su división, un símbolo u otras marcas.

Cápsulas:

Son formas farmacéuticas solidas donde la droga está encerrada en un recipiente o cubierta soluble, duro o blando en una forma adecuada.

Existen diferentes tipos de cápsulas: las de gelatina dura, gelatina blanda y cápsulas de liberación prolongada.

Sobres:

Son polvos en los cuales cada dosis es administrada previa preparación de en una solución extemporánea ya sea en agua u otra bebida.

3.10 Etiquetado Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04

Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano.⁽¹⁸⁾

El objetivo principal de este reglamento es establecer los requisitos mínimos que debe cumplir el etiquetado de productos farmacéuticos para uso humano. Tanto para los productos del territorio del Países de la Región Centroamericana, como los extranjeros.

El etiquetado de medicamentos se clasifica según su forma farmacéutica el reglamento las divide en tres, por lo cual utilizaremos dos, una para las muestras de cápsulas y comprimidos masticables y una para sobres.

1. Comprimidos (tabletas y grageas), cápsulas, trociscos, supositorios, óvulos, parches transdérmicos y otras formas similares (cualquier vía de administración)
2. Soluciones, jarabes, elixires, suspensiones, emulsiones, lociones, polvos para preparación de suspensiones o soluciones, inyectables en

ampollas, jeringas precargadas, vial o parenterales de gran volumen, aerosoles y otras formas similares (cualquier vía de administración)

3. Ungüentos, pomadas, cremas, geles, jaleas, pastas y otras formas similares (cualquier vía de administración)

El reglamento tiene requisitos tanto para etiquetado de envase / empaque primario, como para etiquetado del envase / empaque secundario.

El resto de los datos que no se hayan podido incluir en el etiquetado, se entregarán junto con la información escrita (inserto) que deberá acompañar a la dispensación del producto.

CAPITULO IV

DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de estudio

4.1.1 Experimental: Se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo en salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, durante los meses de septiembre a noviembre del 2017, para los cual se comprobó la presencia de probióticos en productos de uso oral: cápsulas, comprimidos masticables y sobres.

4.1.2 Transversal En la investigación la recolección de la muestra se realizó en el mes de septiembre y la parte experimental en los meses de septiembre a noviembre del 2017.

4.2 Investigación Bibliográfica:

Se realizó las consultas en libros, revistas antecedentes en las siguientes bibliotecas:

- Dr. Benjamín Orozco, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.
- Central de la Universidad de El Salvador.
- Facultad de Química y Farmacia-Biología de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM)
- Internet.

4.3 Investigación de campo.

Se realizó un diagnostico en la Colonia Médica de San Salvador por medio de una hoja de cotejo y una carta dirigida a los encargados de las farmacia (Ver

anexo N° 1 y N° 2) y se identificó el total de farmacias que comercializaban probióticos de uso oral en presentaciones de cápsulas, comprimidos masticables y sobres.

Tabla N° 1 Resultados de probióticos en presentaciones de cápsulas, comprimidos masticables y sobres que se comercializan en las farmacias de la colonia médica, obtenidos por medio de una hoja cotejo.

Marcas	Farmacias																Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Cápsulas		X		X	X		X		X		X			X	X		8
Comprimidos Masticables	X	X	X			X	X	X		X		X	X			X	10
Sobres		X			X		X		X		X				X		6
Total																24	

4.3.1 Universo

Todos los productos orales que contienen probióticos comercializados en las farmacias de la Colonia Médica.

4.3.2 Muestra

Se seleccionaron las muestras utilizando un método no probabilístico, muestreo por conveniencia. ⁽¹⁵⁾ ya que no todas las farmacias que se encuentran ubicadas en la Colonia Médica de San Salvador (Ver anexo N°3, Figura N° 1), comercializan probióticos de uso oral.

Con el muestreo se obtuvo el total de farmacias y las presentaciones de cápsulas, comprimidos masticables y sobres, ubicadas en la Colonia Médica, se presentan en el cuadro N°2.

Cuadro N° 2 Farmacias, Forma Farmacéutica y nombre de producto de probióticos de uso oral.

Farmacias	Forma Farmacéutica	Nombre de producto
SN	Cápsulas	Multiflora Plus
SB	Cápsulas	Multiflora Plus
Esp.	Cápsulas	Multiflora Plus
SN 2	Cápsulas	Multiflora Plus
VG 2	Cápsulas	Multiflora Plus
VG 3	Cápsulas	Multiflora Plus
Val 2	Cápsulas	Multiflora Plus
VG 4	Cápsulas	Multiflora Plus
CM	Comprimidos masticables	Multiflora
SN	Comprimidos masticables	Multiflora
VG	Comprimidos masticables	Multiflora
CM 2	Comprimidos masticables	Multiflora
SN 2	Comprimidos masticables	Multiflora
SB 2	Comprimidos masticables	Multiflora
CM 3	Comprimidos masticables	Multiflora
Val	Comprimidos masticables	Multiflora
CM 4	Comprimidos masticables	Multiflora
CM 5	Comprimidos masticables	Multiflora
SN	Sobres	Ecosys
Esp.	Sobres	Ecosys
SN 2	Sobres	Ecosys
VG 2	Sobres	Ecosys
VG 3	Sobres	Ecosys
VG 4	Sobres	Ecosys

En el cuadro N° 2 se presentan las formas farmacéuticas que son comercializadas en las diferentes farmacias que se encuentran ubicadas en la Colonia Médica, nombres de productos de uso oral para cápsulas, comprimidos masticables y sobres.

Significado de la codificación de las farmacias (Ver anexo N° 4)

Cuadro N° 3 Presentación farmacéutica, usos y dosis para las diferentes muestras de probióticos de uso oral.

Forma Farmacéutica	Presentación farmacéutica	Usos	Dosis
Cápsulas	En cajas de 30 unidades, presentando dos blíster con quince unidades.	<ul style="list-style-type: none"> -Síndrome del intestino irritable (SII) -Diarrea del viajero. -Gastroenteritis ligada a fármacos. -Colitis post tratamiento antibiótico. -Colitis por infección de <i>Clostridium difficile</i>. -Enfermedad intestinal inflamatoria (EII): Enfermedad de Crohn, Colitis ulcerosa crónica. -Inhibición del crecimiento del <i>H. pylori</i> -Enteritis post-radiación. -Intolerancia a la lactosa 	Dos cápsulas con agua, leche, jugo o cualquier líquido no carbonatado, después de cada comida principal.
Comprimidos masticables	En cajas de 30 unidades, presentando dos blíster con quince unidades.	<ul style="list-style-type: none"> -Tratamiento de la diarrea aguda infantil. -Diarrea del viajero. -Gastroenteritis ligada a fármacos. -Colitis post tratamiento antibiótico. -Colitis por infección de <i>Clostridium difficile</i> -Síndrome de intestino irritable (SII) -Enfermedad intestinal inflamatoria (EII); Enfermedad de Crohn, Colitis ulcerosa crónica. -Inhibición del crecimiento del <i>H. pylori</i> -Enteritis post-radiación. -Intolerancia a la lactosa. 	Administrar oralmente dos comprimidos masticables, después de la comida principal.
Sobres	Caja de seis unidades para reconstituir.	-Según prescripción médica.	Según prescripción médica.

Cuadro N° 4 Probióticos que rotulan y cantidad en gramos que presenta cada forma farmacéutica

Forma Farmacéutica	Nombre del probiótico rotulado	Cantidad en gramos (declarada)
Cápsulas	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	No presenta la cantidad en gramos en su etiqueta.
Comprimidos masticables	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> (específico para niños) <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	No presenta la cantidad en gramos en su etiqueta.
Sobres	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i>	1.5 gramos por sobre.

Se obtuvieron las muestras en las diferentes farmacias de la Colonia Médica, en presentaciones de cápsulas y comprimidos masticables que no necesitan refrigeración, en el caso de sobres se colocaron en una hielera con hielo a temperatura de 4°C para mantener la cadena de frío. Luego fueron trasladados al Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador para sus respectivos análisis utilizando una etiqueta para su identificación. (Ver anexo N° 5).

4.4 PARTE EXPERIMENTAL.

Materiales, equipos, reactivos (Ver anexo N° 6)

4.4.1 Recuento en placa de *Lactobacillus spp* en productos de uso oral. Cápsulas, comprimidos masticables y sobres. ^{(2) (14) (23)} (Ver anexo N° 7)

- Pesar 10 g del producto de uso oral: cápsulas, comprimidos masticables y sobres, en balanza semi-analítica., se trituraron los comprimidos masticables con mortero y pistilo estériles, de las cápsulas y sobres se pesó el polvo.
- Agregar 90.0 mL de caldo MRS para reactivarlos por 72 horas, inoculando 1.0 mL en cada una de las dos placas de petri previamente rotuladas y luego adicionar 20.0 mL de agar MRS, homogenizar en forma de ocho y dejar solidificar.
- Incubar las placas a una temperatura de 37°C por 48-72 horas, en jarra de anaerobiosis al 5% de CO₂ y realizar el conteo de bacterias ácido lácticas de los diferentes productos de uso oral. cápsulas, comprimidos masticables y sobres.

4.4.2 Procedimiento para realizar frotis bacteriano y tinción al Gram para la identificación de *Lactobacillus spp*. ^{(2) (14)} (Ver anexo N° 8)

Preparación del frotis bacteriano.

- Se recogió con un asa de platino, una porción del cultivo de la bacteria más aislada de las diferentes placas y se extendió en un porta objeto de

vidrio, se froto hasta formar una película. Se flameo el frotis para que se fijara la bacteria al portaobjeto y luego se dejó secar cerca del mechero.

Preparación de la tinción al Gram

- Se aplicó al porta objetos unas gotas de solución de cristal violeta dejándose por un minuto. Luego se enjuago con agua destilada.
- Se agregaron unas gotas de lugol, dejándose por un minuto, agregando agua destilada y se decoloro de inmediato con alcohol-acetona, se enjuago con agua destilada.
- Se agregó unas gotas de safranina hasta cubrir el frotis, esperar 1 minuto, y enjuagar con agua destilada.
- Se eliminó el exceso de agua secándose con un papel toalla, quitando la humedad
- Se observó al microscopio y se determinó la morfología y el tipo de bacteria bacilo o coco (Gram (+) o Gram (-))

4.4.3 Estandarización del *Lactobacillus rhamnosus* WARU™ cepa control ⁽¹⁴⁾ ⁽²⁴⁾ (Ver anexo N° 9)

- Pesar 1.0 g de polvo de la cepa *Lactobacillus rhamnosus* WARU™ equivalente a 1.50×10^{11} UFC/g.
- Adicionarlo en 10.0 mL de caldo MRS, incubar en jarra de anaerobiosis al 5% de CO₂ por 48 horas a 37°C.

- Después de 48 horas de incubación, se realizó diluciones en solución salina estéril para llevar a la concentración de 10^8 UFC/mL.
- De la concentración de 10^8 UFC/mL, se estandarizó en el espectrofotómetro a 580 nm y $25 \pm 2\%$ T.
- Se inoculó 1.0 mL en cada una de dos placas de petri, se adiciono 20.0 mL de agar MRS. Las placas se inocularon en jarra de anaerobiosis al 5% de CO₂ por 48-72 horas.
- Posteriormente se realizó el recuento de *Lactobacillus rhamnosus* WARU™ para verificar si la concentración de dicha cepa.

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.1 REALIZAR UNA DESCRIPCIÓN DE CADA PRODUCTO SELECCIONADO DE ACUERDO A LA NORMATIVA DE ETIQUETADO REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO RTCA 11.01.02:04 PRODUCTOS FARMACÉUTICOS. ETIQUETADO DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS PARA USO HUMANO.

Para la descripción de etiquetado de las muestras de cápsulas, comprimidos masticables y sobres se utilizó el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04 Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano. (Ver anexo N° 10) ⁽¹⁸⁾

El objetivo principal de este reglamento es establecer los requisitos mínimos que debe cumplir el etiquetado de productos farmacéuticos para uso humano. Tanto para los productos del territorio de los Países de la Región Centroamericana, como los extranjeros.

El etiquetado de medicamentos se clasifica según su forma farmacéutica, el cual los divide en tres:

1. Comprimidos (tabletas y grageas), cápsulas, trocisco, supositorios, óvulos, parches transdérmicos y otras formas similares (cualquier vía de administración).
2. Soluciones, jarabes, elixires, suspensiones, emulsiones, lociones, polvos para preparación de suspensiones o soluciones, inyectables en ampollas, jeringas precargadas, vial o parenterales de gran volumen, aerosoles y otras formas similares (cualquier vía de administración)-

3. Ungüentos, pomadas, cremas, geles, jaleas, pastas y otras formas similares (cualquier vía de administración).

Cuadro N°5 Descripción de etiquetado del envase / empaque primario de las muestras cápsulas y comprimidos masticables

Descripción		Cápsulas	Comprimidos masticables
a	Denominación del medicamento	✓	✓
b	Nombre completo del o los principios activos en su denominación común y su concentración bajo la modalidad de unidosis (formulaciones hasta dos principios activos). Se acepta omitir en el blíster, los principios activos de medicamentos polifármacos como en el caso de multivitamínicos, siempre y cuando se contemple en el empaque secundario. Para empaques multidosis se acepta no rotular cada una de las dosis, siempre y cuando esta información se conserve para el usuario, según las condiciones de dispensación usual del producto. Esta excepción no aplica para los medicamentos de venta libre.	N/A	N/A
c	Nombre de la empresa responsable o laboratorio responsable o logotipo que identifique al laboratorio	✓	✓
d	Número de lote	✓	✓
e	Fecha de vencimiento	✓	✓
f	Contenido, en una (solo si se presenta en frasco)	N/A	N/A
g	Forma farmacéutica (cuando no tenga envase o empaque secundario)	N/A	N/A
h	Vía de administración (cuando no tenga envase o empaque secundario) para supositorios, óvulos, tabletas vaginales aunque tengan envases o empaque secundario	N/A	N/A
i	Número de registro sanitario (cuando no tenga envase o empaque secundario)	N/A	N/A

✓=Si N/A=No aplica

Cuadro N°6 Descripción de etiquetado del envase / empaque secundario
para cápsulas y comprimidos masticables.

Descripción		Cápsulas	Comprimidos masticables
a	Denominación del medicamento.	✓	✓
b	Número de lote.	✓	✓
c	Fecha de vencimiento.	✓	✓
d	Contenido, en unidades.	✓	✓
e	Forma farmacéutica.	✓	✓
f	Vía de administración, incluyendo indicación sobre la administración cuando aplique.	✓	✓
g	Composición del producto por unidad de dosis, indicando los nombres completos para los principios activos con su concentración.	✓	✓
h	Uso pediátrico o frase equivalente (para productos de uso pediátrico exclusivo).	✓	✓
i	Manténgase fuera del alcance de los niños o frase similar.	✓	✓
j	Modalidad de venta.	✓	✓
k	Número de registro sanitario.	✓	✓
l	Nombre del laboratorio fabricante y país de origen.	✓	✓
m	Nombre de la empresa responsable y país (si es de diferente al fabricante).	N/A	N/A
n	Nombre del laboratorio acondicionador o empacador (si es diferente al fabricante o al responsable) y país.	N/A	N/A
o	Condiciones de almacenamiento.	✓	✓
p	Leyendas específicas (ver numeral 7)	N/A	N/A

✓= Si N/A= No aplica

Cuadro N°7 Descripción de etiquetado del envase / empaque primario para sobres

Descripción		Sobres
a	Denominación del medicamento.	✓
b	Nombre completo del o los principios activos en su denominación común y su concentración. Se acepta omitir en formulaciones con más de dos principios activos siempre y cuando esté justificado por falta de espacio, siempre y cuando se complemente en el empaque secundario.	✓
c	Nombre de la empresa responsable o laboratorio responsable o logotipo que identifique al laboratorio y país.	✓
d	Número de lote.	✓
e	Fecha de vencimiento.	✓
f	Contenido, en volumen, unidades de dosis o masa.	✓
g	Forma farmacéutica excepto inyectables cuando tengan empaque secundario.	✓
h	Vía de administración (se acepta abreviaturas sólo para parenterales)	✓
i	Composición del producto por unidad de dosis indicando el o los principios activos con su concentración (cuando no tiene envase o empaque secundario)	✓
j	Condición de almacenamiento (cuando no tiene envase o empaque secundario)	✓
k	Modalidad de venta (cuando no tiene envase o empaque secundario)	N/A
l	Agítese antes de usar (solo para emulsiones y suspensiones)	N/A
m	Forma de preparación o referencia para leer en el instructivo cuando aplique (cuando no tiene envase / empaque secundario)	✓
n	Tiempo de vida útil después de abierto o preparado cuando aplique.	N/A
o	Advertencia de seguridad sobre peligro de explosión, no exponer al calor, no perforar ni arrojar al fuego y evitar el contacto con los ojos (sólo para aerosoles con propelentes inflamables)	N/A
p	Advertencia de seguridad cuando aplique (excepto cuando por motivos justificados de espacio, no pueda colocarse en el primario)	✓
q	Número de registro sanitario (cuando no tiene envase o empaque secundario)	✓
r	En caso particular, el etiquetado de productos en envase o empaques de bajo volumen (hasta 5 mL), debe contener como mínimo la información de los apartados a, c, d, e, f, h y l; la información no consignada debe incluirse en el empaque secundario. Además, el empaque primario debe incluir la información del apartado b, a menos que el producto tenga dos o más principios activos y cuente con un envase o empaque secundario; y en caso de productos con cadena de frío es indispensable incluir la información del apartado j excepto cuando tenga envase o empaque secundario.	N/A

✓= Si N/A= No aplica

Cuadro N°8 Descripción de etiquetado del envase / empaque secundario
para sobres

Descripción		Sobres
a	Denominación del medicamento	✓
b	Nombre del (los) principio(s) activo(s) y su concentración	✓
c	Número de lote	✓
d	Fecha de vencimiento	✓
e	Contenido en volumen, unidades de dosis o masa	✓
f	Forma farmacéutica	✓
g	Vía de administración (se acepta abreviaturas sólo para parenteral)	✓
h	Composición del producto por unidad de dosis indicando los principios activos con su concentración	✓
i	Condiciones de almacenamiento	✓
j	Modalidad de venta	✓
k	Agítese antes de usar (sólo para emulsiones y suspensiones)	N/A
l	Forma de preparación o referencia para leer en el instructivo cuando aplique	N/A
m	Tiempo de vida útil después de abierto o preparado cuando aplique	N/A
n	Advertencia de seguridad sobre peligro de inflamación, no exponer al calor, no perforar o arrojar al fuego y evitar el contacto con los ojos (sólo para aerosoles con propelentes inflamables)	N/A
o	Advertencia de seguridad cuando aplique para otros productos	✓
p	Uso pediátrico o frase equivalente (para productos de uso pediátrico exclusivo)	N/A
q	Manténgase fuera del alcance de los niños o frase similar (excepto cuando el producto es para uso intrahospitalario)	✓
r	Número de registro sanitario	✓
s	Nombre del laboratorio fabricante y país de origen	✓
t	Nombre de la empresa responsable y país (si es diferente al fabricante)	✓
u	Nombre del laboratorio acondicionador o empaquetador y país (si es diferente al fabricante o al responsable)	N/A
v	Precauciones, contraindicaciones y advertencias (sino están incluidas en el inserto)	✓
w	En el caso particular de las vacunas se debe incluir además, la naturaleza y cantidad de adyuvante, preservante, antibiótico y también cualquier otra sustancia agregada que pueda provocar reacciones adversas	N/A
x	Leyendas especiales (ver numeral 7)	N/A

✓= Si N/A= No aplica

Para las presentaciones de cápsulas y comprimidos masticables con respecto a la información o descripción que debe contener un etiquetado del envase o empaque primario estas presentaciones cumplen con cuatro de los nueve requisitos que exige el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04, Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano para poder ser inscrito. Con respecto al etiquetado del envase o empaque secundario, contiene la información de trece de dieciséis requisitos contemplados en el mismo Reglamento.

Ambas presentaciones cápsulas y comprimidos masticables cumplen con los requerimientos necesarios que exige el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04 Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano.

Las presentaciones de sobres cumplen trece de los dieciocho requisitos para etiquetado de envase o empaque primario que exige el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04 Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano. Para etiquetado de empaque o empaque secundario estos cumplen con dieciséis de los veinticuatro que pide dicho reglamento.

Las tres presentaciones que se utilizaron en la investigación cápsulas, comprimidos masticables y sobres cumple con los requisitos que exige el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04 Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano.

Imágenes del empaque secundario de cápsulas, comprimidos masticables y sobres (Ver anexo N° 11)

5.2 HACER UN RECUESTO EN PLACA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN LAS MUESTRAS SELECCIONADAS EN CÁPSULAS, COMPRIMIDOS MASTICABLES Y SOBRES.

El recuento en placa de bacterias ácido lácticas en las presentaciones de cápsulas, comprimidos masticables y sobres se realizó un recuento de una única dilución 10^{-1} , se le realizó un tratamiento previo con caldo MRS, para reactivarlos con el fin de determinar si el número de microorganismos aumentaba y si era necesaria la reanimación para un crecimiento igual o similar al estándar. ⁽¹¹⁾

UFC/mL= N° de colonias por placa * Factor de Dilución

Ejemplo de UFC/mL para cápsulas.

UFC/mL= 17 * 90= 1.5×10^3 UFC/mL

Tabla N° 2 Recuento en placa en muestras de cápsulas

Muestras	Conteo UFC/MI	
	10^{-1}	10^{-8}
Cápsulas	1.5×10^3	
Estándar <i>Lactobacillus rhamnosus</i>		1.0×10^8

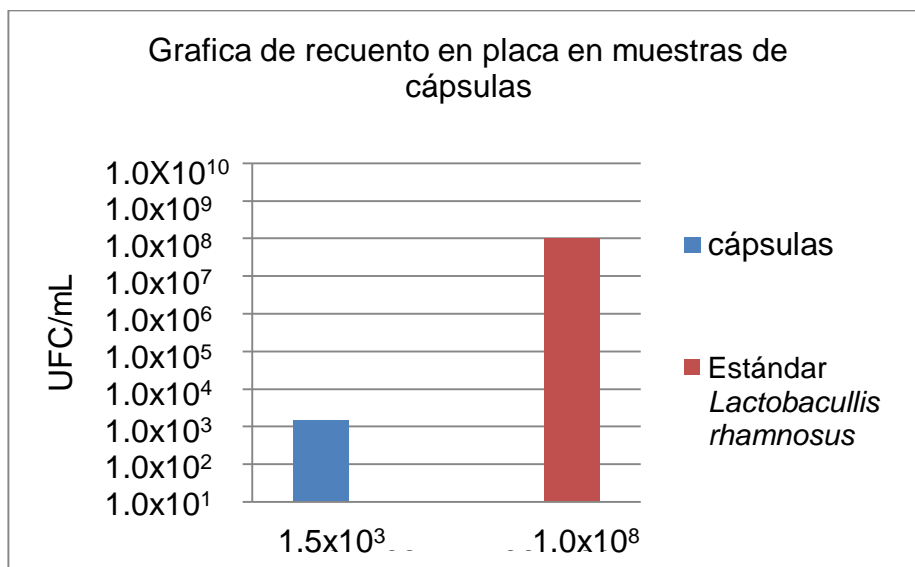


Figura N° 2 Grafica de recuento en placa en muestras de cápsulas.

En la Figura N° 2 se reflejan los resultados obtenidos del recuento en placa para las muestras de cápsulas fue de 1.5×10^3 UFC/mL, valor por debajo de lo que pide la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización mundial de la Salud, para ejercer un efecto positivo a la salud de los consumidores.

Tabla N° 3 Recuento en placa en muestras de comprimidos masticables.

Muestras	Conteo UFC/mL	
	10^{-1}	10^{+8}
Comprimidos masticables	1.3×10^3	
Estándar <i>Lactobacillus rhamnosus</i>		1.0×10^8

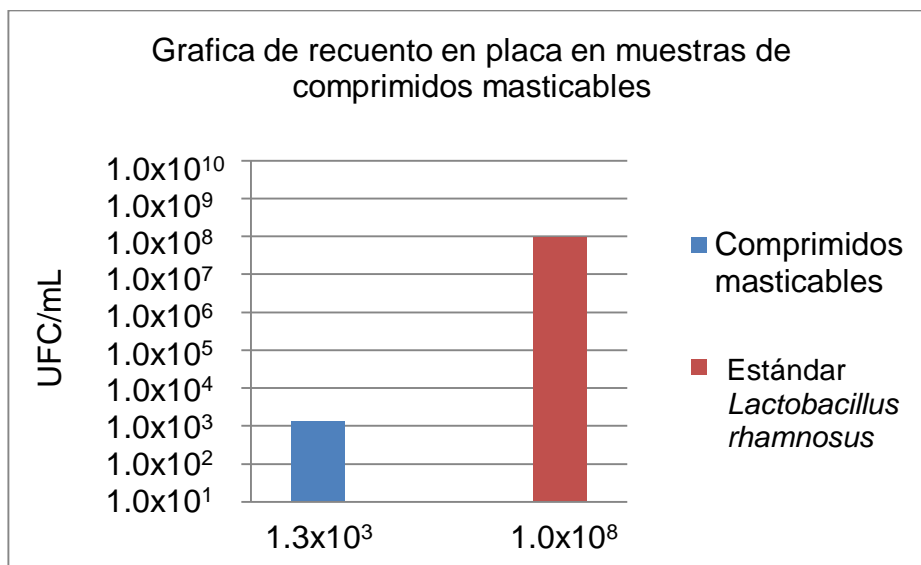


Figura N° 3 Grafica de recuento en placa en muestras de comprimidos masticables

En la Figura N° 3 se refleja el recuento en placa Unidades Formadoras de Colonia por Mililitro (UFC/mL) para las muestras de comprimidos masticables, obteniéndose un valor de 1.3×10^3 UFC/mL, no está dentro del rango que establece la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización mundial de la Salud, para ser considerado como probiótico y dar efecto positivo al consumidor.

Tabla N° 4 Recuento en placa en muestras de sobres

Muestras	Conteo de UFC/mL	
	10^{-1}	10^{-8}
Sobres	1.90×10^3	
Estándar <i>Lactobacillus rhamnosus</i>		1.0×10^8

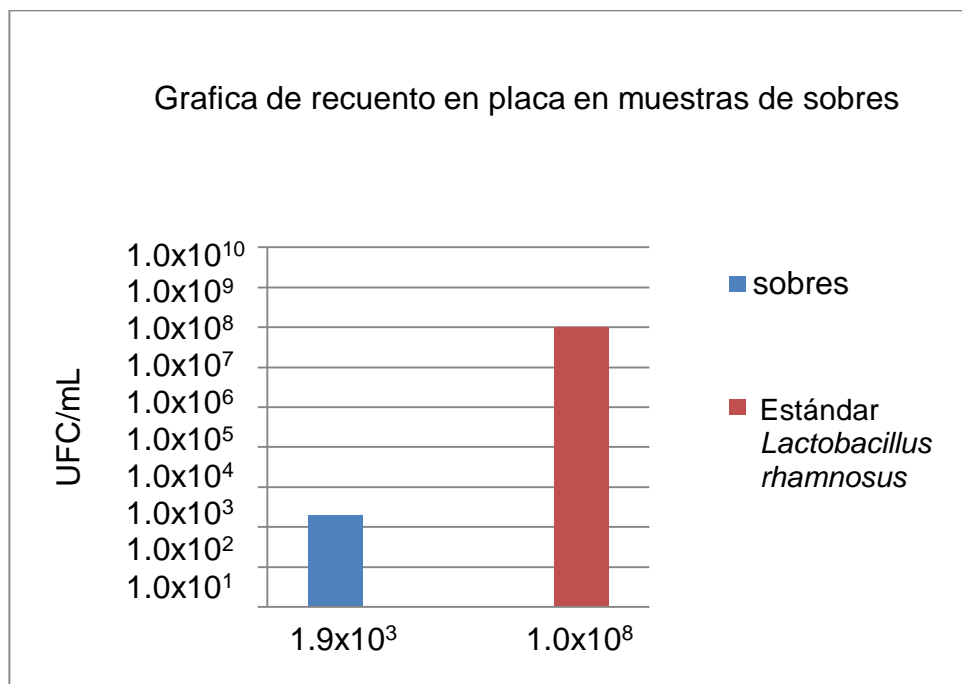


Figura N° 4 Grafica de recuento en placa en muestras de sobres

En la Figura N° 4 se reflejan los resultados obtenidos del recuento en placa para las muestras de sobres, el cual fue de 1.9×10^3 UFC/mL, comparada con el estándar a una concentración de 1.0×10^8 UFC/mL está por debajo de lo que establece la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización mundial de la Salud, para ejercer un efecto real al consumidor.

5.3 IDENTIFICAR LOS MICROORGANISMOS MACROSCÓPICAMENTE Y MICROSCÓPICAMENTE EN LAS MUESTRAS SELECCIONADAS.

La identificación macroscópica y microscópica de las tres formas farmacéuticas de estudio cápsulas, comprimidos masticables y sobres, aplicando la técnica de Procedimiento para realizar frotis bacteriano y tinción al Gram para la

identificación de *Lactobacillus spp* evaluando también el estándar *Lactobacillus rhamnosus*.

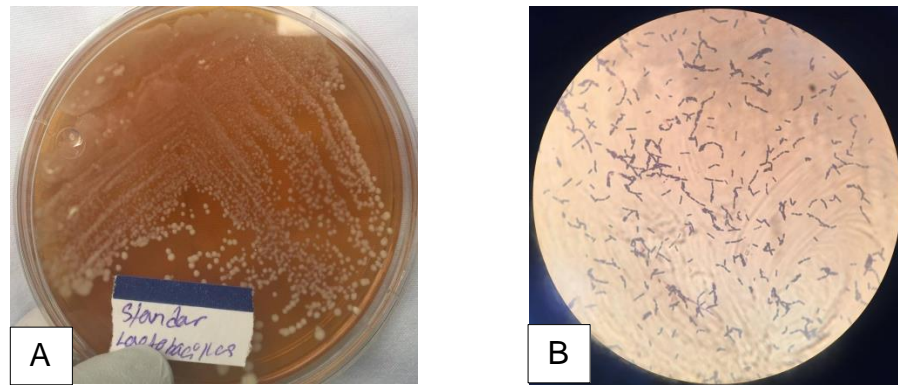


Figura N° 5 Estándar de *Lactobacillus rhamnosus* macroscópicamente (A) y microscópicamente (B)

Se corrobora según la literatura ⁽⁹⁾ y las Figura N° 5 A y B los resultados corresponden a las características macroscópicas y microscópicas por lo que se confirma que es un *Lactobacillus rhamnosus*.

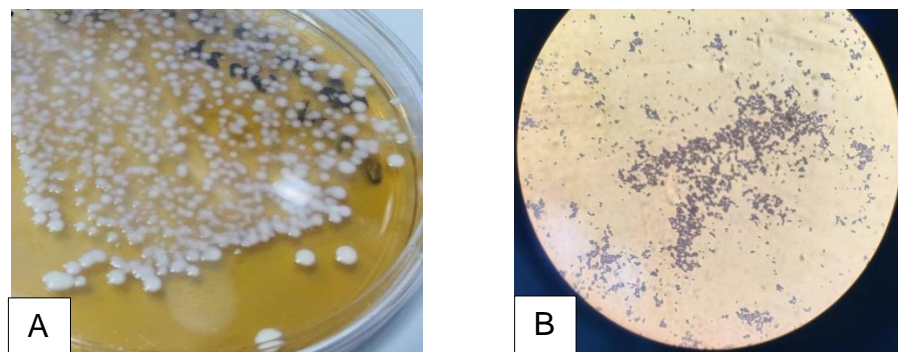


Figura N° 6 Muestras de cápsulas macroscópicamente (A) y microscópicamente (B)

En la Figura N° 6 A y B, se afirma con respecto a la literatura ⁽¹⁰⁾ que los resultados obtenidos corresponden a la descripción de la presencia de *Streptococcus*.

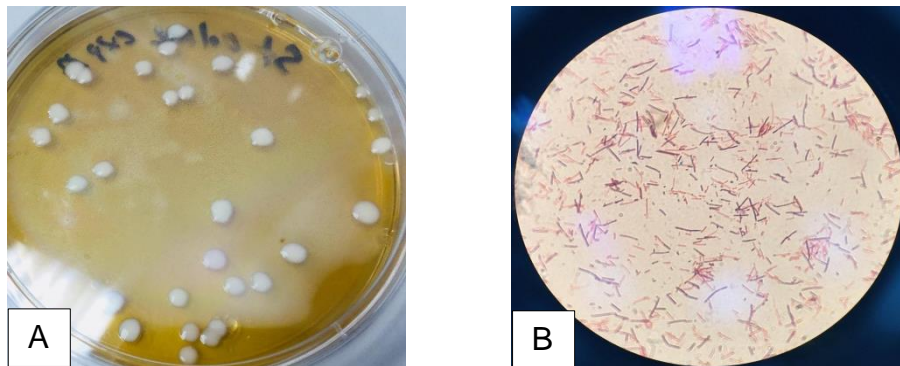


Figura N° 7 Muestras de comprimidos masticables macroscópicamente (A) y microscópicamente (B)

Se comprueba que de acuerdo con la literatura ⁽⁹⁾, en la Figura N° 7 A y B los resultados coinciden con la descripción por lo que se confirma la presencia de *Lactobacillus spp.*

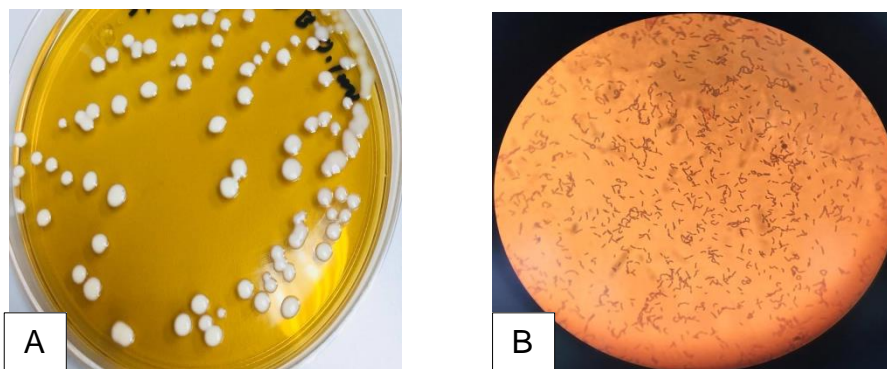


Figura N° 8 Muestras de sobres macroscópicamente (A) y microscópicamente (B)

En las Figura N° 8 A y B se comprueba de acuerdo con la literatura ⁽⁹⁾, los resultados obtenidos confirman la presencia del genero *Lactobacillus spp.*

5.4 COMPARAR LOS MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN LOS PRODUCTOS CON EL ESTÁNDAR *Lactobacillus rhamnosus* ESTABLECIDO POR LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.

Se utilizó la técnica de recuento para las muestras de cápsulas, comprimidos masticables y sobres, las cuales fueron comparadas con el estándar *Lactobacillus rhamnosus* proporcionado por el Laboratorio de Microbiología Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) llevándose a una concentración de 1.0×10^8 UFC/mL.

El rango que comprende la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) va de 10^6 y 10^9 UFC/g, para ser considerado como probiótico y ejercer un efecto positivo para la salud. (Ver anexo N° 12)

- Las muestras de cápsulas presentaron un crecimiento en placa de 1.5×10^3 UFC/mL, las cuales fueron comparadas con el estándar de referencia *Lactobacillus rhamnosus* que se encontraba a una concentración de 1.0×10^8 UFC/mL. El crecimiento obtenido para las muestras de cápsulas no fue el esperado ya que éste se encuentra por debajo del rango de referencia.
- En las muestras de comprimidos masticables, se obtuvo un crecimiento de 1.3×10^3 UFC/mL, comparado con el estándar de referencia *Lactobacillus rhamnosus* a una concentración de 1.0×10^8 UFC/mL este crecimiento está por debajo del rango establecido por la Organización de

las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud.

- Las muestras de sobres analizados por la misma técnica de recuento en placa, este presentó un crecimiento de 1.9×10^3 UFC/mL comparándose con el estándar *Lactobacillus rhamnosus* utilizado como estándar de referencia a una concentración de 1.0×10^8 UFC/mL, el crecimiento está fuera del rango que comprende las autoridades nacionales.

Las presentaciones de cápsulas, comprimidos masticables y sobres analizados por el método de recuento en placa, no presentaron un crecimiento favorable establecido por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) ya que estas organizaciones establecen un rango entre 10^6 - 10^9 UFC.

La identificación de los microorganismos tanto a nivel macroscópico como microscópico en las muestras de cápsulas, comprimidos masticables y sobres, se comparó con el estándar *Lactobacillus rhamnosus*, obteniéndose lo siguiente.

- En las muestras de cápsulas comparadas a nivel macroscópico y microscópico en el estándar de referencia *Lactobacillus rhamnosus*, presenta características macroscópicas similares, presentando una coloración blanca, lisa de forma circular, con una elevación convexa, a nivel microscópico presentaron una coloración morada no se presentó bacilos largos, por el contrario se observaron cocos gram positivos característico del género *Streptococcus*. Ver Figura N° 5 y N° 6.

- Las muestras de comprimidos masticables, comparadas a nivel macroscópico con el estándar de referencia *Lactobacillus rhamnosus*, se observó que ambas presentaron colonias de color blanco, convexa, características del género *Lactobacillus spp.* por otro lado nivel microscópico en las muestras se observaron bacilos largos similares a los del estándar y una coloración morada. Siendo Gram positivo cuyos componentes en su morfología son *Lactobacillus spp.* Ver Figura N° 5 y N°7.
- Para las muestras contenidas en sobres presentaron colonias aisladas de color blanco, convexas y circulares similares a la morfología macroscópica del estándar *Lactobacillus rhamnosus*. La morfología microscópica fue de color morado presentando una tinción al Gram positivo, se observaron bacilos largos, no igual que el estándar pero si característico del género *Lactobacillus spp.* Ver Figura N° 5 y N°8.

VI. CONCLUSIONES

1. Según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04 de Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano, tanto las muestras de cápsulas, comprimidos masticables y sobres cumplen con requisitos establecidos para su inscripción y comercialización, así como para el etiquetado, tanto para envase primario y secundario.
2. Las muestras de cápsulas en el recuento en placa de bacterias ácido lácticas, presentaron un crecimiento de 1.5×10^3 UFC/mL, valor por debajo de lo que establece la Organización Mundial de la Salud (OMS) que va de 10^6 - 10^9 UFC para ser considerado como probiótico.
3. Para las muestras de comprimidos masticables, se obtuvo un crecimiento en placa de 1.3×10^3 UFC/mL, no cumple con lo establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS), que estipula un rango de 10^6 – 10^9 UFC para poder ser considerado como probiótico.
4. El crecimiento en placa para las muestras de sobres fue de 1.9×10^3 UFC/mL, estas se comparado con la cepa patrón a una concentración de 1.0×10^8 UFC/mL, lo cual el crecimiento de las muestras fue bajo con respecto al rango que establece la Organización Mundial de la Salud (OMS) que va de 10^6 – 10^9 UFC para ser considerado como probiótico y dar un efecto beneficioso a la salud.
5. Las muestras seleccionadas de cápsulas, comprimidos masticables y sobres a nivel macroscópico, presentan características similares como el

color de las colonias, la forma entre otras en comparación con la cepa patrón *Lactobacillus rhamnosus*.

6. Las muestras de comprimidos masticables y sobres, a nivel microscópico mostraron bacilos largos gran positivos, no se determinó específicamente la presencia de *Lactobacillus rhamnosus* pero si contienen microorganismos del genero *Lactobacillus spp*.
7. Las muestras de cápsulas a nivel microscópico no presentaron bacilos largos que son características similares a la cepa patrón *Lactobacillus rhamnosus*, pero si se observaron *Streptococcus spp* que es uno de los probióticos presentes en su forma farmacéutica.
8. Para este tipo de productos farmacéuticos es importante que presenten la concentración de probióticos necesaria, para poder ejercer un efecto positivo en la salud de los consumidores ya que la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece un rango de $10^6 - 10^9$ UFC.

VII. RECOMENDACIONES

1. Que los medicamentos se mantengan bajo las condiciones de almacenamiento necesarias, para que no pierdan las propiedades como probióticos, según lo establezca en su etiquetado del envase/ empaque primario y etiquetado del envase/ empaque secundario según lo establece el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04 Productos Farmacéuticos, Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano;
2. Antes de realizar el recuento en placa, colocar los 10 gramos de las muestras en reactivación por 72 horas en Medio de cultivo De Man Rogosa Sharpe (MRS) para obtener mejores resultados.
3. Que por medio del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) y otras instituciones de investigación se gestionen paneles para intercambiar información de investigaciones sobre temas relacionados con el consumo de probióticos de uso oral.
4. Que en futuras investigaciones se realice con productos de diferente presentación que rotulen probióticos que se comercialicen en El Salvador, para confirmar si presentan la cantidad necesaria para poder ejercer un efecto beneficioso a la salud.
5. Que se reevalúe/validen estudios para verificación de dosis/resultado de productos probióticos, para confirmar si presentan la cantidad necesaria que establece la Organización Mundial de la Salud (OMS).

6. Se compruebe haciendo uso de pruebas API, el microorganismo presente en las muestras.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alm L. Effect of fermentation on lactose, glucose and galactose content in milk and suitability of fermented milk products for lactose-deficient individuals. *J Dairy Sci* 1982; 65; 346-352.
2. Bergey D. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. [Libro en línea]. 9th ed. USA; 1994. [Acceso el 15 de abril de 2017].
3. Cervantes, Giovanni (2014). Trabajo monográfico de actualización. Tesis de químico de alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
4. Cruz Pacheco K. Determinación de la viabilidad de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bajo condiciones gastrointestinales humanas simuladas in vitro. [Tesis doctoral]. México D.F., Instituto Politécnico Nacional, 2010.
5. Dobson, A., Cotter, P.D., Ross, R.P., Hill, C. Bacteriocin production: a probiotic trait *Applied and Environmental Microbiology* 2012, ch 78:1–6.
6. FAO/OMS. Consulta de Expertos FAO/OMS sobre Evaluación de las Propiedades Saludables y Nutricionales de los Probióticos en los Alimentos, 2001. p.2, 6.
7. Gilliland's, C R Nelson .Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*.1985; 49: 377-381.

8. Hirayama K, Raffer J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. *Microbes infect* 2000; 2: 681-686.
9. http://beduniv.reduniv.edu.cu/fetch.php?data=201&type=pdf&id=2814&db=0_
10. https://www.cure4kids.org/private/courses_documents/m_149/Cure4Kids-04-Estreptococos.pdf
11. http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/it/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-720-39%252FCRDs%252FCRD27_ol%2B%2528comments%2Bof%2BArgentina%2529.pdf [consultado el 29.10.2018]
12. Jiang T, Savaiano DA. Modification of colonic fermentation by bifidobacteria and pH in vitro. Impact on lactose metabolism, short-chain fatty acid, and lactate production. *Dig Dis Sci* 1977; 42: 2370-2377.
13. Maldonado, E. (2013). Determinación del efecto de *Lactobacillus* con potencial probiótico sobre la bacteria patógena *Salmonella typhimurium* y su tiempo de sobrevivencia a los ácidos biliares y pH ácidos del estómago. Tesis de licenciatura en química y farmacia. Universidad de El Salvador. San Salvador.
14. Midolo, P. D., Lambert, J.R., Hul, R., Luo F., & Grayson, M.L (2015). In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC11637 by organic acids and lactic acid bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 79 (4), 475-479.

15. Muestreo por conveniencia –Explorable.com [Consultado el: 20.03.2018].
Disponible en: <https://explorable.com/es/muestreo-por-conveniencia>
16. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación/ Organización Mundial de la Salud. Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Informe del Grupo de Trabajo Conjunto FAO/OMS [Acceso el 20 de abril de 2017]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512s/a0512s00.pdf>
17. Prescott L.M, Harley J.P, Klein D.A. Microbiología. Quinta edición. España. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 2004.
18. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04 Productos farmacéuticos. Etiquetado de productos farmacéuticos para uso humano. 2014 [consultado 26.10.2018]; [5-7]. Disponible en: [http://www.medicamentos.gob.sv/tmp/Archivos/RESOLUCIONES_MEDICAMENTO S/Anexo%20%20Resolucion%20340-2014.pdf](http://www.medicamentos.gob.sv/tmp/Archivos/RESOLUCIONES_MEDICAMENTO_S/Anexo%20%20Resolucion%20340-2014.pdf)
19. Rodríguez I, Salazar M, Villalobos E. *Lactobacillus spp.* del tracto intestinal de *Gallus gallus* con potencial probiótico. [Revista en línea] 2012 [acceso 30 de junio de 2017]; 32 (2). Disponible en: http://www.facbio.unitru.edu.pe/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=139&Itemid=149
20. Saavedra, J. M. Clinical applications of probiotic agents. Amer. J. Clin. Nutr. 2001; 29(4): 1147-1151.

21. Sgouras, D. N., Panayotopoulou, E. G., Martinez, B., Petraki, K., Michopoulos, S., & Mentis, A. (2005). *Lactobacillus johnsonii* La1 attenuates *Helicobacter pylori*-associated gastritis and residues levels of proinflammatory chemokines in C57BL/6 mice. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12(12), 1378-1386.
22. The United States Pharmacopeia Convention, Inc. The United States Pharmacopeia. The 30th Revision and the National Formulary. Twenty-fifth edition. U.S. 2007. Page 1 p.96-100
23. The United States Pharmacopeia Convention, Inc. The United States Pharmacopeia. The 40th Revision and the National Formulary. Twenty-fifth edition. U.S. 2017. Page 1 p.130-136
24. Tannock G. Molecular Genetics: A New Tool for Investigating the Microbial Ecology of the Gastrointestinal Tract. *Microbial Ecology* [revista en internet] 1988 [acceso 24 de marzo de 2017]; 15(239). Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007%2F02012640?LI=true#page-2>
25. Vasiljevic, T., & Shah, N.P (2008). Probiotics—From Metchnikoff to bioactivrs. *International Dairy Journal*, 18(7), 714-728.

ANEXOS

ANEXO N°2

Carta dirigida a los encargados de la farmacia.



FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR



Ciudad Universitaria, 25 de agosto de 2017.

Señor Gerente
de Farmacia

Estimado Gerente:


Por medio de la presente nos dirigimos a usted con la finalidad, de solicitar la autorización y apoyo para el desarrollo de un trabajo de investigación, misma que es un requisito para que los estudiantes **JHIMMY ALEXANDER ROSA LAZO Y MILAGRO DE LA PAZ ZEPEDA LOBO**, puedan optar al título de Lic. Química y Farmacia, de la Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia; la cual lleva como nombre **"Comprobación en productos de uso oral la presencia de probióticos *Lactobacillus spp* en las farmacias de la colonia médica"**.

Solicitamos el permiso para poder realizar una encuesta, es importante señalar que esta investigación no conllevara a ningún gasto ni problemas para su institución y que se tomaran los resultados de forma anónima.

Desde ya agradecemos su disposición y su colaboración, es muy importante para el éxito de nuestra investigación y para nuestra formación como futuros profesionales.

Muy atentamente,

"Hacia la Libertad por la Cultura"


MSc. Maria Evelin Sánchez de Ramos
Asesora de Tesis



ANEXO N° 3



Figura N° 1 Ubicación de las farmacias que se encuentran en la Colonia médica.

ANEXO N° 4

Significado de la codificación de las farmacias ubicadas en la Colonia Médica.

Las muestras fueron codificadas con abreviaturas y un número.

CM= Camila

SN= San Nicolás

VG= Virgen de Guadalupe

SB= San Benito

Esp= Especialidades

CM2= Camila 2

SN2= San Nicolás 2

SB2= San Benito 2

VG2= Virgen de Guadalupe 2

CM3= Camila 3

VG3= Virgen de Guadalupe 2

Val= Value

CM4= Camila 4

Val2= Value2

VG4= Virgen de Guadalupe 4

CM5= Camila 5

ANEXO N° 5

Modelo de etiqueta para identificar las muestras de Cápsulas, Comprimidos masticables y Sobres, recolectadas en las farmacias de la Colonia Médica.

Código de muestra: _____	Fecha: _____
Lugar de muestreo: _____	
Hora de la toma de muestra: _____	
Análisis requerido: _____	

Nombre del analista: _____	

ANEXO N° 6

Materiales, equipo y reactivos

Materiales

Tubos de ensayo

Beaker

Probeta

Agitadores de vidrio

Erlenmeyer

Placas de petri

Mortero y pistilo

Equipos

Jarra de anaerobiosis

Estufa

Autoclave

Balanza semi-analitica

Termómetro

Agitador magnético

Cuenta colonias

Incubadora

Reactivos

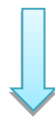
Caldo Medio de cultivo De Man Rogosa Sharpe (MRS)

Agar Medio de cultivo De Man Rogosa Sharpe (MRS)

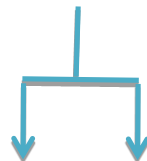
ANEXO N°7

RECuento EN PLACA DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN PRODUCTOS
DE USO ORAL CÁPSULAS, COMPRIMIDOS MASTICABLES Y SOBRES

Pesar 10 g, en balanza semi-analitica del producto de uso oral: Comprimidos masticables, Cápsulas y Sobres. Se trituraron los Comprimidos masticables con mortero y pistilo estéril, Cápsulas y Sobres solo se pesó el polvo.



90.0 mL de Caldo MRS, para reactivarlos por 72 Horas.

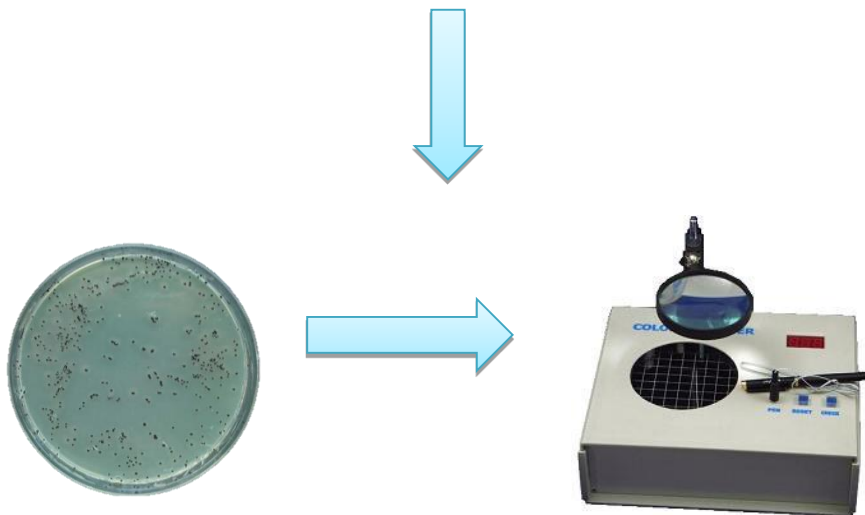


Inoculando 1.0 mL en cada una de las dos placas de petri previamente rotuladas y adicionar aproximadamente 20.0 ml de agar MRS, homogenizar en forma de ocho y dejar solidificar.

Figura N° 9 Recuento en placa de bacterias ácido lácticas en productos de uso oral cápsulas, comprimidos masticables y sobres.



Incubar las placas a 37°C en jarra de anaerobiosis al 5% de CO₂ entre 48-72 horas.



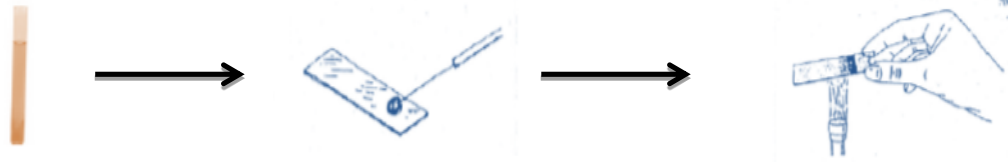
Realizar el conteo de dichas bacterias ácido láctico en los diferentes productos de uso oral. Cápsulas, Comprimidos masticables y Sobres.

Figura N° 9 Continuación.

ANEXO N° 8

PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR FROTIS BACTERIANO Y TINCIÓN AL
GRAM PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *Lactobacillus spp.*

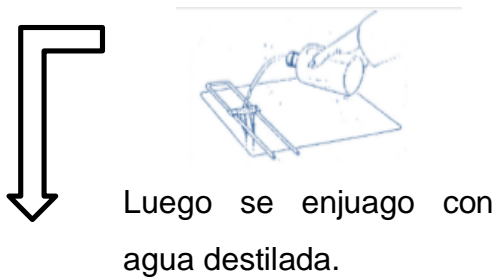
Preparación del frotis bacteriano



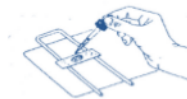
Se recogió por medio de un asa de platino, una porción del cultivo de la bacteria más aislada y extenderla sobre una porta objetos de vidrio, para formar una película.

A continuación se flameo el frotis para fijar la bacteria al portaobjetos y luego deje secar cerca del mechero.

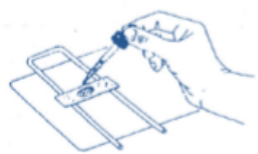
Preparación de la tinción al Gram



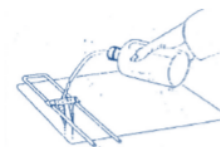
Luego se enjuago con agua destilada.



Se aplicó a la porta objetos unas gotas de solución de cristal violeta por un minuto.

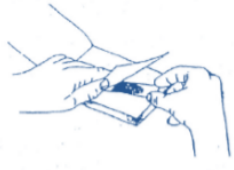


A continuación se agregaron unas gotas de lugol, durante un minuto.

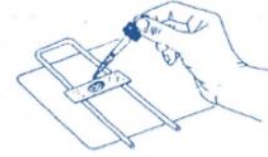


Se enjuago con agua destilada y se decoloro de inmediato con alcohol-acetona, Luego se enjuago con agua destilada.

Figura N° 10 Procedimiento para realizar frotis bacteriano y tinción al Gram para la identificación de *Lactobacillus spp.*



Se eliminó el exceso de agua secándose con papel toalla para quitar la humedad.



Después se agregó unas gotas de safranina hasta cubrir el frotis, esperar 1 minuto, y enjuagar con agua destilada.



Se observó al microscopio y se determinó la morfología y el tipo de Bacteria. (Gram (+)).



Morfología: Se presentan como Bacilos largos y extendidos aunque también se pueden presentar como Bacilos cortos, no son móviles.

Figura N° 10 Continuación.

ANEXO N° 9

ESTANDARIZACIÓN DEL *Lactobacillus rhamnosus* WARU™

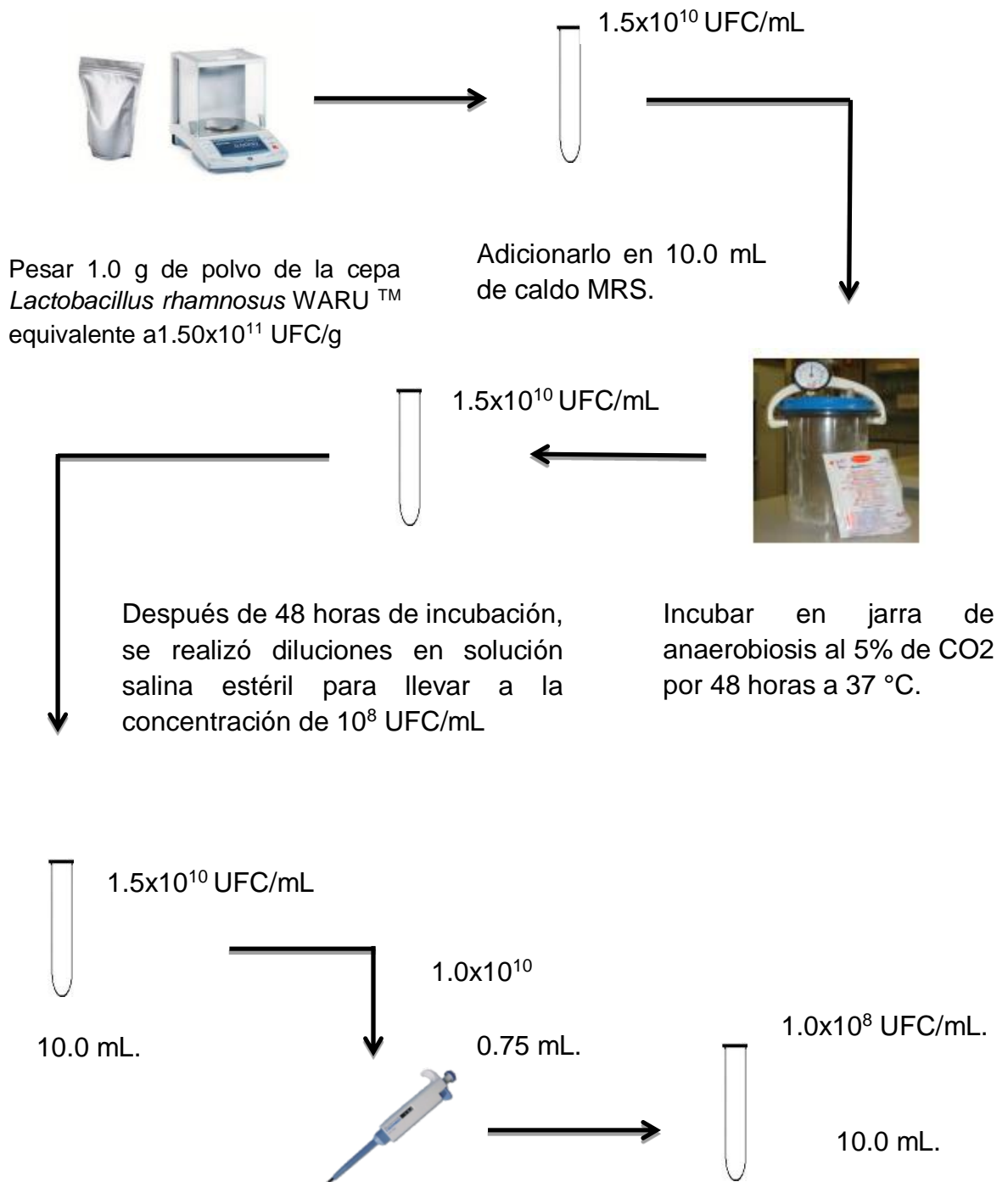
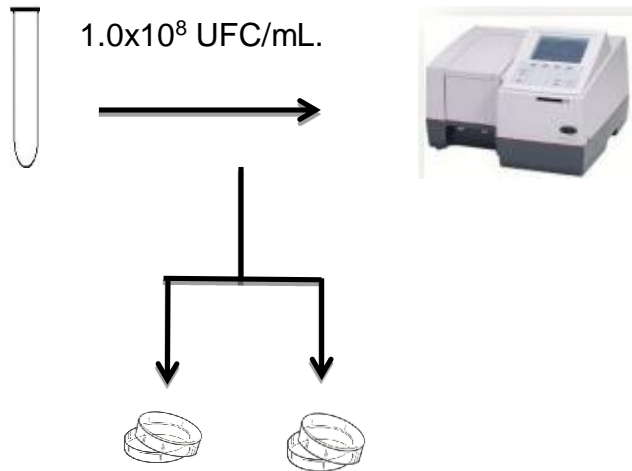
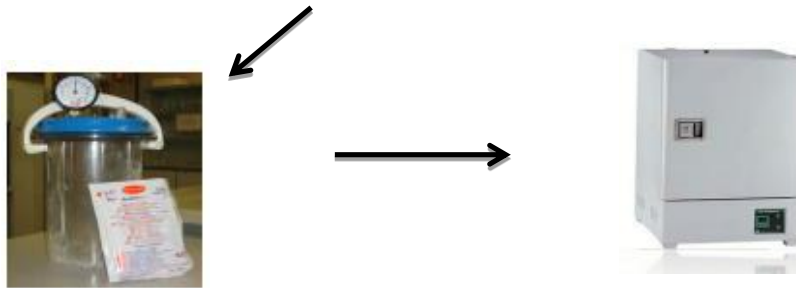


Figura N° 11 Estandarización del *Lactobacillus rhamnosus* WARU™.

De la concentración 10^8 UFC/mL, se estandarizo en el espectrofotómetro a 580 mn.



A continuación se inoculo 1.0 mL en dos placas de petri y se adiciono aproximadamente 20 mL de agar MRS.



Se realizó el conteo de las colonias de *Lactobacillus rhamnosus* WARU™ para verificar si la concentración de dicha cepa es de 10^8 UFC/mL.

Figura N° 11 Continuación.

ANEXO N° 10

REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO RTCA 11.01.02:04
PRODUCTOS FARMACÉUTICOS. ETIQUETADO DE PRODUCTOS
FARMACÉUTICOS PARA USO HUMANO.

**REGLAMENTO
TECNICO
CENTROAMERICANO**

RTCA 11.01.02:04

**PRODUCTOS FARMACEUTICOS. ETIQUETADO DE PRODUCTOS
FARMACÉUTICOS PARA USO HUMANO**

CORRESPONDENCIA: Este reglamento no tiene correspondencia con ninguna norma internacional

ICS 11.120

11.01.02:03

Reglamento Técnico Centroamericano, editado por:

- Comisión Guatemalteca de Normas, COGUANOR
- Organismo Salvadoreño de Reglamentación Técnica, OSARTEC
- Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, MIFIC
- Secretaría de Desarrollo Económico, SDE
- Ministerio de Economía, Industria y Comercio, MEIC

INFORME

Los respectivos Comités Técnicos de Normalización a través de los Entes de Normalización de los Países de la Región Centroamericana, y sus sucesores, son los organismos encargados de realizar el estudio o la adopción de los Reglamentos Técnicos. Están integrados por representantes de la Empresa Privada, Gobierno, Organismos de Protección al Consumidor y Académico Universitario.

Este documento fue aprobado como Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.01.02:04 PRODUCTOS FARMACÉUTICOS. ETIQUETADO DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS PARA USO HUMANO, por los Subgrupos de Medidas de Normalización y Medicamentos y Productos Afines de la Región Centroamericana. La oficialización de este Reglamento Técnico, conlleva la aprobación por una resolución del Consejo de Ministros de Integración Económica (COMIECO).

MIEMBROS PARTICIPANTES DEL COMITÉ**Por Guatemala:**

COGUANOR

Por El Salvador:

CONACYT

Por Nicaragua:

MIFIC

Por Honduras:

SIC

Por Costa Rica

MEIC

1. OBJETO

El objeto de este reglamento técnico es establecer los requisitos mínimos que debe cumplir el etiquetado de productos farmacéuticos para uso humano, tanto para los productos del territorio de los Países de la Región Centroamericana, como los extranjeros.

2. CAMPO DE APLICACIÓN

Este reglamento técnico se aplica al etiquetado de todos los productos farmacéuticos para uso humano, cualquiera que sea su modalidad de venta, expedición o suministro.

3. NORMAS A CONSULTAR

RTCA 01.01.10:05 Sistema Internacional de Unidades (SI)

4. DEFINICIONES Y TERMINOLOGÍA

4.1 Acondicionador o empacador: empresa que realiza las operaciones necesarias para que un producto a granel llegue a ser un producto terminado.

4.2 Concentración: es el contenido de principio activo en masa (peso) o volumen, expresado en unidades del Sistema Internacional de Unidades (SI) o en Unidades Internacionales (UI), en función de la forma farmacéutica.

4.3 Denominación del medicamento: la denominación puede ser una denominación común internacional o bien un nombre de marca. Cuando sea un nombre de marca no deberá prestarse a confusión con la denominación común internacional.

4.3.1 Denominación común internacional: es la denominación recomendada por la Organización Mundial de la Salud para los principios activos. También se conoce como nombre genérico.

4.4 Dosis: cantidad total de medicamento que se administra de una sola vez.

4.4.1 Dosis terapéutica: es la cantidad de un medicamento que debe administrarse a un paciente, en un intervalo de tiempo determinado, para producir el efecto terapéutico deseado.

4.4.2 Dosis única: cantidad de medicamento que se prescribe para una sola administración.

4.5 Responsable: es la persona natural o jurídica que responde legalmente por el producto ante las autoridades correspondientes.

4.6 Envase o empaque

4.6.1 Envase primario o empaque primario: recipiente dentro del cual se coloca directamente el medicamento en la forma farmacéutica terminada.

4.6.2 Envase secundario o empaque secundario: recipiente dentro del cual se coloca el envase primario que contiene al medicamento en su forma farmacéutica terminada para su

distribución y comercialización.

4.7 Estupefaciente: sustancia que posee alto potencial de dependencia y abuso y que han sido clasificadas como tales en la Convención Única sobre Estupefacientes de las Naciones Unidas.

4.8 Etiquetado o rotulado: Es toda inscripción o leyenda que identifica al producto, que se imprima, adhiera o grave en la tapadera del envase o empaque primario, y /o envase o empaque secundario.

4.9 Excipiente o vehículo: sustancia libre de acción farmacológica a la concentración utilizada, que determina o modifica la consistencia, forma, volumen y/o propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de las preparaciones farmacéuticas. Un mismo excipiente puede tener una o más funciones.

4.10 Fecha de expiración o vencimiento: fecha colocada en el material de empaque primario y secundario de un producto, para indicar la fecha hasta la cual se espera que el producto satisfaga las especificaciones de calidad. Esta fecha se establece para cada lote.

4.11 Forma farmacéutica: es la forma física que se le da a un medicamento, para facilitar la administración del producto al paciente.

4.12 Inserto, prospecto o instructivo: es la información técnico-científica que se adjunta al producto terminado, el cual debe contener como mínimo los datos necesarios para el uso seguro y eficaz del medicamento que lo contiene.

4.13 Lote: es una cantidad específica de cualquier material que haya sido manufacturado bajo las mismas condiciones de operación y durante un periodo determinado, que asegura características y calidad uniforme dentro de ciertos límites especificados y es producido en un ciclo de manufactura.

4.14 Número de lote: es cualquier combinación de letras, números o símbolos que sirven para la identificación de un lote.

4.15 Modalidad de venta: son las diferentes variantes por medio de las cuales pueden ser comercializados los productos farmacéuticos. Siendo éstas las siguientes:

- a) Producto de venta bajo prescripción médica o producto de venta con receta médica;
- b) producto de venta con receta médica retenida o especial cuando aplique;
- c) producto de venta libre.

4.15.1 Producto de venta bajo prescripción médica o receta médica: es el producto farmacéutico autorizado para comercializarse bajo el amparo de una receta médica.

4.15.2 Producto de venta bajo receta médica retenida o especial: es el producto farmacéutico autorizado para comercializarse bajo el amparo de una receta médica retenida especial o no según aplique.

4.15.3 Producto de venta libre: es el producto farmacéutico autorizado para comercializarse sin prescripción médica.

4.16 Nombre de marca: nombre que a diferencia de la denominación común internacional distingue a un determinado producto farmacéutico, de propiedad exclusiva de un laboratorio y protegido por la ley por un período de tiempo.

4.17 Nombre genérico: nombre empleado para distinguir un principio activo que no está amparado por una marca de fábrica. Es usado comúnmente por diversos fabricantes y reconocido por la autoridad competente para denominar productos farmacéuticos que contienen el mismo principio activo. El nombre genérico se corresponde generalmente con la Denominación Común Internacional.

4.18 Principio activo: toda sustancia o composición química que presenta propiedades preventivas, paliativas o curativas sobre las enfermedades humanas.

Toda sustancia o composición química que pueda ser administrada a los seres humanos con el fin de establecer un diagnóstico clínico, o de restaurar, corregir o modificar sus funciones orgánicas.

4.19 Productos Oficinales o Fórmulas Magistrales: Preparación o producto medicinal hecho por el farmacéutico para atender a una prescripción o receta médica.

4.20 Producto terminado: es el que está en su envase o empaque definitivo, rotulado y listo para ser distribuido y comercializado.

4.21 Prescripción o receta médica: orden suscrita por los profesionales legalmente autorizados, a fin de que uno o más productos farmacéuticos especificados en ella sean dispensados.

4.22 Sicotrópico: medicamento que tiene efecto sobre las funciones síquicas. Específicamente se refiere a cualquier medicamento utilizado para el tratamiento de trastornos o enfermedades mentales.

4.23 Unidosis: forma de presentación de un producto medicamentoso que contiene justamente la cantidad de medicamento necesaria para la administración de una sola dosis.

4.24 Vía de administración: ruta mediante la cual se pone el medicamento en contacto con el ser humano receptor para que pueda ejercer acción local o acción sistémica.

5. CONDICIONES GENERALES DEL ETIQUETADO

El etiquetado o rotulado no debe desaparecer bajo condiciones de manipulación normales, ser fácilmente legible a simple vista y estar redactado en idioma español. Sin embargo, podrá redactarse a la vez en otros idiomas pero la información debe ser esencialmente la misma.

Las etiquetas podrán ser de papel o de cualquier otro material que pueda ser adherido a los envases o empaques o bien de impresión permanente sobre los mismos; siempre y cuando este proceso de impresión no altere la integridad del envase o empaque sobre el cual se realiza dicha impresión.

La impresión de las etiquetas que se adhieran al envase o empaque, podrán estar en el reverso de las mismas, siempre que sean claramente visibles y legibles a través del envase o empaque con su contenido.

Para efectos de etiquetado las cunas, bandejas, burbujas y otros aditamentos, no se consideran envase o empaque secundario.

La concentración de vitaminas, enzimas, antibióticos y otros productos que se declaran en unidades, deberá expresarse en Unidades Internacionales (UI) o en unidades del Sistema Internacional (SI).

Si el producto se va a comercializar sin el envase o empaque secundario, el etiquetado del envase o empaque primario debe cumplir con todos los requisitos indicados para el envase o empaque secundario.

6 ETIQUETADO DE MEDICAMENTOS SEGÚN SU FORMA FARMACÉUTICA

6.1 Comprimidos (tabletas y grageas), cápsulas, trociscos, supositorios, óvulos, parches transdérmicos y otras formas similares (cualquier vía de administración)

6.1.1 Etiquetado del envase / empaque primario

La información mínima que deberá llevar el etiquetado del envase o empaque primario del producto, es la siguiente:

- a) Denominación del medicamento;
- b) Nombre completo del o los principios activos en su denominación común y su concentración bajo la modalidad de unidosis (formulaciones hasta dos principios activos). Se acepta omitir en el blister, los principios activos de medicamentos polifármacos como en el caso de multivitamínicos, siempre y cuando se contemple en el empaque secundario. Para empaques multidosis se acepta no rotular cada una de las dosis, siempre y cuando esta información se conserve para el usuario, según las condiciones de dispensación usual del producto. Esta excepción no aplica para los medicamentos de venta libre.
- c) Nombre de la empresa responsable o laboratorio responsable o logotipo que identifique al laboratorio;
- d) Número de lote;
- e) Fecha de vencimiento;
- f) Contenido, en unidades (solo si se presenta en frascos);
- g) Forma farmacéutica (cuando no tenga envase o empaque secundario),
- h) Vía de administración (cuando no tenga envase o empaque secundario) para supositorios, óvulos, tabletas vaginales aunque tenga envase o empaque secundario.
- i) Número de registro sanitario (cuando no tenga envase o empaque secundario)

6.1.2 Etiquetado del envase / empaque secundario

La información mínima que deberá llevar el etiquetado del envase o empaque secundario del producto, es la siguiente:

- a) Denominación del medicamento;
- b) Número de lote;
- c) Fecha de vencimiento;
- d) Contenido, en unidades;
- e) Forma farmacéutica;
- f) Vía de administración, incluyendo indicación especial sobre la forma de administración cuando aplique.;
- g) Composición del producto por unidad de dosis, indicando los nombres completos de los principios activos con su concentración;
- h) Uso pediátrico o frase equivalente (para productos de uso pediátrico exclusivo);
- i) Manténgase fuera del alcance de los niños o frase similar;
- j) Modalidad de venta;
- k) Número de registro sanitario;
- l) Nombre del laboratorio fabricante y país de origen;
- m) Nombre de la empresa responsable y país (si es diferente al fabricante);
- n) Nombre del laboratorio acondicionador o emparador (si es diferente al fabricante o al responsable) y país;
- o) Condiciones de almacenamiento
- p) Leyendas especiales (Ver numeral 7)

6.2 Soluciones, jarabes, elixires, suspensiones, emulsiones, lociones, polvos para preparación de suspensiones o soluciones, inyectables en ampolla, jeringas precargadas, vial o parenterales de gran volumen, aerosoles y otras formas similares (cualquier vía de administración)

6.2.1 Etiquetado del envase / empaque primario

La información mínima que deberá llevar el etiquetado del envase o empaque primario del producto, es la siguiente:

- a) Denominación del medicamento;
- b) Nombre completo del o los principios activos en su denominación común y su concentración. Se acepta omitir en formulaciones con más de dos principios activos siempre y cuando esté justificado por falta de espacio, siempre y cuando se contemple en el empaque secundario;
- c) Nombre de la empresa responsable o laboratorio responsable o logotipo que identifique al laboratorio y país;
- d) Número de lote;
- e) Fecha de vencimiento;
- f) Contenido, en volumen, unidades de dosis o masa;
- g) Forma farmacéutica excepto inyectables cuando tengan empaque secundario;
- h) Vía de administración (se acepta abreviaturas sólo para vía parenteral);
- i) Composición del producto por unidad de dosis indicando el o los principios activos con su concentración (cuando no tiene envase o empaque secundario);
- j) Condiciones de almacenamiento (cuando no tiene envase o empaque secundario);
- k) Modalidad de venta (cuando no tiene envase o empaque secundario);
- l) Agítese antes de usar (sólo para emulsiones y suspensiones);
- m) Forma de preparación o referencia para leer en el instructivo cuando aplique (cuando no tiene envase / empaque secundario);

- n) Tiempo de vida útil después de abierto o preparado cuando aplique;
- o) Advertencia de seguridad sobre peligro de explosión, no exponer al calor, no perforar o arrojar al fuego y evitar el contacto con los ojos (sólo para aerosoles con propelentes inflamables,);
- p) Advertencia de seguridad cuando aplique (excepto cuando por motivos justificados de espacio, no pueda colocarse en el primario).
- q) Número de registro sanitario (cuando no tiene envase o empaque secundario);
- r) En caso particular, el etiquetado de productos en envase o empaques de bajo volumen (hasta 5 mL), debe contener como mínimo la información de los apartados a, c,d,e,f, h y l ; la información no consignada debe incluirse en el empaque secundario. Además, el empaque primario debe incluir la información del apartado b, a menos que el producto tenga dos ó más principios activos y cuente con un envase o empaque secundario; y en caso de productos con cadena de frío es indispensable incluir la información del apartado j excepto cuando tenga envase o empaque secundario.

6.2.2 Etiquetado del envase / empaque secundario

La información mínima que deberá llevar el etiquetado del envase o empaque secundario del producto, es la siguiente:

- a) Denominación del medicamento;
- b) Nombre del (los) principio(s) activo(s) y su concentración;
- c) Número de lote;
- d) Fecha de vencimiento;
- e) Contenido en volumen, unidades de dosis o masa;
- f) Forma farmacéutica;
- g) Vía de administración (se acepta abreviaturas sólo para parenteral);
- h) Composición del producto por unidad de dosis indicando los principios activos con su concentración;
- i) Condiciones de almacenamiento;
- j) Modalidad de venta;
- k) Agítese antes de usar (sólo para emulsiones y suspensiones);
- l) Forma de preparación o referencia para leer en el instructivo cuando aplique;
- m) Tiempo de vida útil después de abierto o preparado cuando aplique
- n) Advertencia de seguridad sobre peligro de inflamación, no exponer al calor, no perforar o arrojar al fuego y evitar el contacto con los ojos (sólo para aerosoles con propelentes inflamables);
- o) Advertencia de seguridad cuando aplique para otros productos;
- p) Uso pediátrico o frase equivalente (para productos de uso pediátrico exclusivo);
- q) Manténgase fuera del alcance de los niños o frase similar (excepto cuando el producto es para uso intrahospitalario);
- r) Número de registro sanitario;
- s) Nombre del laboratorio fabricante y país de origen;
- t) Nombre de la empresa responsable y país (si es diferente al fabricante);
- u) Nombre del laboratorio acondicionador o empacador y país (si es diferente al fabricante o al responsable);
- v) Precauciones, contraindicaciones y advertencias (sino están incluidas en el inserto).

- w) En el caso particular de las vacunas se debe incluir además, la naturaleza y cantidad de adyuvante, preservante, antibiótico y también cualquier otra sustancia agregada que pueda provocar reacciones adversas.
- x) Leyendas especiales (Ver numeral 7)

6.3 Ungüentos, pomadas, cremas, geles, jaleas, pastas y otras formas similares (cualquier vía de administración)

6.3.1 Etiquetado del envase / empaque primario

La información mínima que deberá llevar el etiquetado del envase o empaque primario del producto, es la siguiente:

- a) Denominación del medicamento;
- b) Nombre del (los) principio (s) activo (s) y su concentración;
- c) Nombre de la empresa responsable o laboratorio responsable o logotipo que identifique al laboratorio y país;
- d) Número de lote;
- e) Fecha de vencimiento;
- f) Contenido en volumen, o masa;
- g) Forma farmacéutica;
- h) Vía de administración;
- i) Composición del producto por unidad de medida, (por cada gramo o por cada 100 gramos) indicando los principios activos con su concentración;
- i) Condiciones de almacenamiento (cuando no tiene envase o empaque secundario individual);
- j) Modalidad de venta (cuando no tiene envase o empaque secundario);
- k) Número de registro sanitario (cuando no tiene envase o empaque secundario individual).

6.3.2 Etiquetado del envase / empaque secundario

La información mínima que deberá llevar el etiquetado del envase o empaque secundario del producto, es la siguiente:

- a) Denominación del medicamento;
- b) Nombre del (los) principio (s) activo (s) y su concentración
- c) Número de lote;
- d) Fecha de vencimiento;
- e) Contenido, en volumen, o masa;
- f) Forma farmacéutica;
- g) Vía de administración;
- h) Composición del producto por unidad de medida, (por cada gramo o por cada 100 gramos) indicando los principios activos con su concentración;
- h) Uso pediátrico o frase equivalente para productos de uso pediátrico exclusivo;
- i) Manténgase fuera del alcance de los niños o frase similar;

- j) Condiciones de almacenamiento;
- k) Modalidad de venta;
- l) Número de registro sanitario;
- m) Nombre del laboratorio fabricante y país de origen;
- n) Nombre del empresa responsable y país (si es diferente al fabricante);
- o) Nombre del laboratorio acondicionador o empacador y país (si es diferente al fabricante o al responsable);
- p) Precauciones de seguridad y advertencias cuando aplique.

7. LEYENDAS ESPECIALES

El envase o empaque secundario, o el envase o empaque primario cuando el producto no tenga envase o empaque secundario, de medicamentos que contengan los principios activos o excipientes descritos en el listado del anexo 1, deberá llevar las leyendas (o frases similares) que indiquen las acciones citadas en el mismo.

Además deberán llevar leyendas o frases similares a las contenidas en las Normas Farmacológicas de Centroamérica y República Dominicana (NFCARD) en su última versión y otras que sean armonizadas en el marco del proceso de Unión Aduanera Centroamericana.

8. PRODUCTOS DE VENTA LIBRE

Adicionalmente a lo indicado en los Capítulos 6 y 7, los productos de venta libre deberán consignar en el etiquetado del envase / empaque primario si no tienen envase / empaque secundario o en el envase / empaque secundario si no tienen inserto, sus indicaciones, precauciones, contraindicaciones y dosis.

9. PRODUCTOS OFICINALES (FÓRMULAS MAGISTRALES)

La información mínima que deben consignar los productos oficinales (fórmulas magistrales) es la siguiente:

- a) Denominación del medicamento;
- b) Nombre y dirección de la farmacia y nombre del farmacéutico responsable;
- c) Composición del producto por unidad de medida, indicando los principios activos con su concentración e incluyendo en el texto excipientes c.s. ó vehículo c.s.o abreviaturas equivalentes
- d) Vía de administración
- e) Dosis y forma de administración, ejemplo: Poner 2 cucharadas en medio vaso de agua

10. SICOTRÓPICOS O ESTUPEFACIENTES

Adicionalmente a lo indicado en los Capítulos 6 y 7, los medicamentos que contengan estupefacientes o sicotrópicos, deberán imprimir en el envase o empaque secundario, o en el primario si no tienen envase o empaque secundario, la frase: "Precaución, puede crear dependencia" o una frase similar.

11. INSERTO, INSTRUCTIVO O PROSPECTO

Para el caso de productos en los cuales es indispensable incluir indicaciones, advertencias, contraindicaciones, interacciones, dosis, etc., estas pueden ser impresas en el envase / empaque primario, secundario, en el inserto, instructivo o prospecto.

12. CORRESPONDENCIA

Para la elaboración del presente reglamento técnico se tomaron en cuenta los documentos siguientes:

- a) Protocolo del “II Taller de armonización de criterios de registro sanitario de medicamentos para Centroamérica y Panamá”, Guatemala, septiembre 17-19, 1998.
- b) Unión Europea, Directiva 92/27/CEE del Consejo de 31 de marzo de 1992, relativa al etiquetado y al prospecto de los medicamentos de uso humano.
- c) Departamento de regulación y control de productos farmacéuticos y afines. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala. Leyendas especiales de impresión obligatoria en empaques de medicamentos. Guatemala, 1998.

13. VIGILANCIA Y VERIFICACIÓN

Corresponde la vigilancia y la verificación de este Reglamento Técnico a las Autoridades Regulatorias de Registro Sanitario de Medicamentos y otras autoridades competentes de cada Estado Miembro.

ARTICULO TRANSITORIO

Los medicamentos que contengan trazas de gluten o que contengan fuentes de gluten de acuerdo al numeral 8 del Anexo 1 del RTCA productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano, y que ya se están comercializando, tendrán un período de 12 meses para implementar la leyenda en el etiquetado del empaque. En el caso de Panamá tendrá un período de 24 meses para implementar la leyenda en el etiquetado del empaque.

ANEXO 1

Leyendas especiales

- 1. Tartrazina (uso oral).** No administrar a personas alérgicas a la tartrazina.
- 2. Alcohol bencílico (uso parenteral).** Contiene alcohol bencílico, no administrar a niños menores de seis (6) meses.
- 3. Tetraciclinas.** No administrar a niños menores de ocho (8) años, ni durante el embarazo o lactancia.
- 4. Ácido acetil salicílico.** No administrar a niños menores de doce (12) años con varicela o gripe.
- 5. Acetaminofén (paracetamol).** No administrar más de cinco (5) veces al día la dosis recomendada, ni por más de cinco (5) días consecutivos a niños, ni por más de diez (10) días consecutivos a adultos. Si persiste el dolor o la fiebre por más de tres (3) días consecutivos, consultar al médico.
- 6. Aspartame (uso oral).** Contiene fenilalanina, precaución en pacientes fenilcetonúricos.
- 7. Opio, loperamida o difenoxilato (indicados en diarreas).** Contraindicado en niños menores de dos (2) años. Precaución en embarazo y lactancia.
- 8. Gluten.** Los medicamentos que contengan trazas de gluten o que contengan fuentes de gluten, es decir almidón de trigo, avena, cebada, centeno o triticale y sus derivados, deben agregar una leyenda igual o similar a la siguiente:
"Precaución contiene gluten".

FIN DEL REGLAMENTO TÉCNICO

ANEXO N° 11

IMÁGENES DE EMPAQUE SECUNDARIO DE CÁPSULAS, COMPRIMIDOS
MASTICABLES Y SOBRE



Figura N° 12 Empaque secundario de Cápsulas (Multiflora).

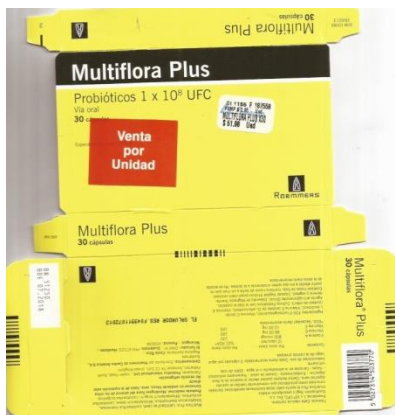


Figura N° 13 Empaque secundario de Comprimidos masticables (Multiflora plus)



Figura N° 14 Empaque secundario de sobres (Ecosys).

ANEXO N° 11

- Según La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (FAO/ OMS) para ser considerado probiótico:

Se deja a criterio de las autoridades autorizar cantidades menores a 10^9 células vivas por porción diaria en aquellos casos en los cuales la cantidad para producir un efecto sea diferente. Si bien nuestra legislación establece un rango comprendido entre 10^6 y 10^9 UFC/g, se sugiere especificar un rango y no un valor absoluto, expresado por porción diaria de alimento.

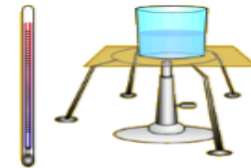
ANEXO N° 13

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVOS



Pesar 14.773 g. en balanza semi-analitica de Agar MRS (para conteo de *Lactobacillus spp.*)

Disolver los 14.773 g. en 200 mL de agua destilada



Luego esterilizar en el autoclave a 121°C, 15 lb. de presión por 15 min.

Calentar a ebullición para disolver completamente.

Figura N° 15 Procedimiento para la preparación del agar MRS.



Pesar 5.1 g. en balanza semi-analitica de polvo para la preparación de caldo MRS.



Suspender los 5.1 g. en 100 mL de agua destilada.



Mezclar con el agitador magnético a 500 rpm hasta disolver completamente.



Distribuirlos en tubos de ensayo con rosca en cantidades de 9.0 mL.



Luego esterilizar en el autoclave a 121°C, 15 lb. de presión por 15 min.

Figura N° 16 Procedimiento para la preparación de Caldo MRS.