



Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

TESIS

“DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLOGICA EN  
CREMA COSMETICA”

PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

BACHILLER: CALANCHE YUCRA, Gretel Alejandrina

ASESOR: QF. MONTEAGUDO MONTENEGRO, Fabricio

LIMA-PERÚ

2016

Al creador de todas las cosas y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional, por ser mi fortaleza y brindarme una vida llena de aprendizajes, dedico en primer lugar mi trabajo a Dios.

Le doy gracias a mi mamá Paula Yucra y a mi papá Jesús Calanche, por apoyarme en todo momento, que me brindaron su confianza y cariño.

A mis hermanos Danny y Kelly, cuñada y a mis sobrinos que han estado siempre a mi lado siendo mi inspiración para superarme.

## RESUMEN

La seguridad y calidad de los cosméticos constituyen elementos de importancia para la salud de la población y el desarrollo económico y social de nuestro país. La presente investigación ejecuta un ensayo de análisis microbiológico para identificar la presencia de *Escherichia coli* en cremas cosméticas de Concha de Nácar comercializadas en la Galería Mesa Redonda. La técnica aplicada es descrita en la NTP-ISO N° 21150-2009, para el análisis se seleccionó tres potes de crema de 30 en dos presentaciones de crema cosmética constituyendo un número total de seis muestras analizadas cumpliendo con el criterio de número muestral. Se utilizó un caldo de enriquecimiento de para el tratamiento previo y recuperación del microorganismo para su posterior aislamiento e identificación en Agar Mac Conkey en la que se obtuvo el resultado de AUSENCIA TOTAL de *Escherichia coli* en la muestra. Declarándose como producto aprobado

## ABSTRAC

The safety and quality of cosmetic elements are important to the health of the population and economic and social development of our country.

This research performs a test microbiological analysis to identify the presence of *Escherichia coli* in cosmetic creams marketed Mother of Pearl Gallery in Mesa Redonda. The applied technique is described in the NTP-ISO No. 21150-2009, for the analysis, three jars of cream of 30 was selected in two forms of cosmetic cream making a total number of six samples tested meet the criterion of sample number. Enrichment broth for the pretreatment and recovery of the microorganism for further isolation and identification in Mac Conkey Agar in which the result of absence of *Escherichia coli*. In the sample was obtained was used. Declared as approved product.

## ÍNDICE

CARÁTULA.....	i
DEDICATORIA.....	ii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xv
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>17</b>
1.1 Descripción de la Realidad Problemática.....	17
1.2 Formulación del Problema.....	18
1.3 Objetivos de la Investigación.....	18
1.3.1 Objetivo General.....	18
1.3.2 Objetivos Específico.....	18
1.4 Hipótesis de la Investigación.....	19
1.4.1 Hipótesis General.....	19
1.4.2 Hipótesis Secundarias.....	19
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación.....	19
1.5.1 Justificación.....	19
1.5.2 Importancia.....	21

<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>23</b>
2.1 Antecedentes de la Investigación.....	23
2.2 Bases Teóricas.....	26
2.2.1 La piel.....	26
2.2.2 Tipos de piel.....	27
2.3 Funciones de la piel.....	28
2.3.1 Termorregulación.....	28
2.3.2 Protección.....	28
2.3.3 Recepción de estímulos.....	28
2.3.4 Excreción.....	28
2.3.5 Queratogénesis.....	29
2.3.6 Melanogénesis.....	29
2.4 Estructura histológica de la piel.....	29
2.4.1 La Dermis.....	29
2.4.2 Epidermis.....	30
2.4.3 Hipodermis.....	32
2.5 Emulsiones.....	32
2.5.1 Propiedades de las emulsiones.....	33
A. Tipo de emulsiones.....	33
B. Composición de una emulsión.....	34

2.6 Cosméticos.....	36
2.6.1 Productos Cosméticos Naturales.....	37
2.6.2 Cualidades que debe cumplir un cosmético.....	37
2.6.3 Composición general de los productos cosmético.....	38
2.6.4 Clasificación de los productos cosméticos.....	40
2.6.5 Tipos de Cosméticos.....	44
2.6.6 Cremas.....	45
A. Clasificación.....	45
B. Propiedades de las Bases para Cremas.....	46
C. Características de los Principios Activos empleados.....	47
D. Conservadores Antimicrobianos.....	48
2.6.7 Origen de la contaminación.....	49
A. Importancia clínica de la contaminación.....	51
B. Parámetros de calidad microbiológica.....	54
C. Metodologías de Análisis Microbiológico.....	56
2.7 Control de Calidad para cosméticos.....	60
2.7.1 Controles Organolépticos.....	60
2.7.2 Controles Físico –Químicos.....	60
2.7.3 Control Microbiológico.....	61



A. Recuento Total de Bacterias (RTB).....	64
B. Recuento Total de Mohos y Levaduras (RTML).....	65
C. Número más probable (NMP) de Coliformes Totales.....	65
D. Identificación de Microorganismos Patógenos.....	66
<b>CAPITULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>71</b>
3.1 Tipo de Investigación.....	71
3.1.1 Método.....	71
3.2 Población y Muestreo de la Investigación.....	71
3.2.1 Población.....	71
3.2.2 Muestra.....	72
3.3 Variables e indicadores.....	73
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	73
3.4.1 Técnicas.....	73
3.4.2 Instrumentos.....	74
3.5 Diluyentes y medios de cultivos.....	74
3.5.1 Diluyente para la suspensión bacteriana (Solución de cloruro de sodio triptona).....	75
3.6 Medio de cultivo.....	75
3.6.1 Medio agar digerido de caseína y soja (SCDA) o agar Soja tripticasa (TSA).....	76
3.6.2 Caldo de enriquecimiento.....	76

A. Caldo Eugon LT 100.....	76
3.6.3 Medio agar selectivo para aislamiento de <i>Escherichia coli</i> .....	77
A. Agar MacConkey.....	77
3.6.4 Medio agar selectivo para la confirmación de <i>Escherichia coli</i> .....	78
A. Medio agar levine con eosina –azul de metileno.....	78
3.7 Equipo y material de vidrio.....	79
3.8 Microorganismo de ensayo.....	79
3.9 Manipulación de productos cosméticos y muestras de laboratorio.....	80
3.10 Procedimiento.....	80
A. Recomendaciones generales.....	80
B. Preparación de la suspensión inicial en el caldo de enriquecimiento.....	81
a) Productos inmiscibles en agua.....	81
b) Productos inmiscibles en agua.....	81
c) Productos filtrables.....	82
3.11 Incubación del caldo de enriquecimiento inoculado.....	82
3.12 Detección e identificación de <i>Escherichia coli</i> .....	82
A. Aislamiento.....	82
B. Identificación de <i>Escherichia coli</i> .....	83
a) Tinción de gram.....	83
b) Cultivos en medio agar levine con eosina – azul de metileno....	83

3.13 Expresión de resultado detección de <i>Escherichia coli</i> .....	84
--	----

<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>85</b>
4.1 Resultados.....	85
DISCUSION.....	88
CONCLUSIONES.....	91
RECOMENDACIONES.....	92
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	93
ANEXOS.....	95

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla Nº 1:</b> Tipos clásicos de piel.....	27
<b>Tabla Nº 2:</b> Tipos de cosméticos.....	44
<b>Tabla Nº 3:</b> Clasificación de crema.....	45
<b>Tabla Nº 4:</b> Especificación de Límites Microbianos para Cosméticos...	62
<b>Tabla Nº 5:</b> Especificación de Microorganismos Patógenos.....	64
<b>Tabla Nº 6:</b> Características morfológicas de <i>Escherichia coli</i> en medio Agar MacConkey.....	83
<b>Tabla Nº 7:</b> Características morfológicas de <i>Escherichia coli</i> en medio Agar de metileno – levine eosina.....	84
<b>Tabla Nº 8:</b> Muestra Nº 1 determinación de <i>Escherichia coli</i> .....	85
<b>Tabla Nº 9:</b> Muestra Nº 2 Determinación de <i>Escherichia coli</i> .....	85
<b>Tabla Nº 10:</b> Cantidad suficiente requerida por la NTP para el análisis	86
<b>Tabla Nº 11:</b> Criterio de aprobación y resultados obtenidos en el Análisis microbiológico de las muestras seleccionadas...	87

## INDICE DE FIGURA

<b>Figura N° 1:</b> Estructura de la piel.....	29
<b>Figura N° 2:</b> Tejido conjuntivo dermis.....	30
<b>Figura N° 3:</b> Células de la epidermis.....	31
<b>Figura N°4:</b> Tejido adiposo unilocular en la hipodermis.....	32
<b>Figura N° 5:</b> Diferentes tipos de emulsión.....	35

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico N° 1:</b> Distribución de pesos utilizados en el análisis Microbiológico.....	86
<b>Gráfico N° 2:</b> Ausencia de <i>E. coli</i> en las muestras seleccionadas para Análisis.....	87

## INDICE DE FOTOGRAFÍA

<b>Fotografía N°1:</b> Laboratorio de la universidad Alas Peruanas, Realizando el análisis microbiológico en agar Con crema cosmética.....	95
<b>Fotografía N° 2:</b> Protocolo de análisis N° 00106-CPF 2015, muestra Concha de nácar (nutre y regenera la piel).....	96
<b>Fotografía N° 3:</b> Protocolo de análisis N° 00106-CPF 2015, muestra Concha de nácar (nutre y regenera la piel).....	97

## INTRODUCCIÓN

El profesional responsable de la producción de cosméticos debe asegurar que los productos que suministra son de calidad, seguros y eficaces. Para lograr este objetivo son múltiples los análisis que se realizan sobre las materias primas empleadas y los productos finales. Entre esos análisis, el control microbiológico se considera de gran importancia ya que en estos productos, ricos en componentes susceptibles de ser empleados por los microorganismos como fuente de nutrientes, se pueden presentar las condiciones necesarias para la multiplicación de microorganismos capaces de deteriorar el producto o, incluso, afectar la salud del consumidor. Las consecuencias económicas derivadas de todo ello son múltiples ya que la detección del desarrollo microbiano en cosméticos supone la retirada de lotes completos del producto acabado, afecta a la imagen de marca y, por último, puede tener consecuencias sanitarias, puesto que no son pocos los microorganismos potencialmente patógenos capaces de desarrollarse en productos cosméticos.

## LISTA DE ABREVIATURAS

NTP: Norma Técnica Peruana

Col.: Colaboradores

*E. Coli: Escherichia coli*

USP: Farmacopea de Estados Unidos

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

*S. Saprophyticus: Staphylococcus saprophyticus*

*B. anthracis: Bacillus anthracis*

*B. cereus: Bacillus cereus*

Comedón: Conocido como espinilla o barro

Radiación UV: Radiación ultra violeta

V/V: Volumen- volumen

FDA: Federal de Alimentos, Drogas y Cosméticos de los Estados Unidos

INCI: Nomenclatura Internacional de Ingredientes en la Cosmética

*S. aureus: Staphylococcus aureus*

MERCOSUR: Parámetros de Control Microbiológico para Productos de Higiene Personal, Cosméticos y Perfumes.

COGUANOR: Norma guatemalteca obligatoria, diario de Centroamérica. Guatemala, mayo.

*Salmonella sp. : Salmonella sin especificar especie*

*Pseudomonas sp. :Pseudomonas sin especificar especie*

*Staphylococcus spp: Staphylococcus sin especificar especie*

ATCC= Colección Americana de Cultivos Tipo

CTFA: Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association

ASTM: American Society for Testing and Materials

UV-Vis: Ultravioleta-Visible

IV: Infrarrojo

BAM: Manual de Bacteriología Analítica

ml.: Mililitro

RTB: Recuento Total de Bacterias

RTML: Recuento Total de Mohos y Levaduras

NMP Número más probable

CO<sub>2</sub>: Dióxido de carbono

µm. : Micrómetros

H<sub>2</sub>S : Ácido sulfhídrico

*C. albicans*: *Candida albicans*

*Candida spp* : *Candida sin especificar especie*

SCDA: Medio agar digerido de caseína y soja

TSA: Agar soja tripticasa

°C.: Grado centígrado

pH.:Potencial de hidrogeno

CIP=Colección del Instituto Pasteur

NCIMB=Colección Nacional de Bacterias Industriales y Marinas

NBRC=Centro Nacional de Investigación Biológica

KCTC=Colección Coreana para Cultivos Tipo



## **CAPITULO I:**

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

#### **1.1 Descripción de la Realidad Problemática**

La seguridad y calidad de los cosméticos constituyen elementos de importancia para la salud de la población y el desarrollo económico y social de nuestro país. La mayoría de las formulaciones cosméticas contienen un elevado porcentaje de agua y muchas de las sustancias utilizadas en su fabricación pueden ser degradadas biológicamente por microorganismos, por lo que, son productos que se deterioran más rápido con el paso del tiempo.<sup>1</sup>

La presencia de microorganismos en los productos cosméticos puede producir cambios en el aspecto físico (color, olor y textura). Signos que son detectados por el consumidor quien reacciona rechazando el producto. Sin embargo, cuando la contaminación microbiológica no modifica el aspecto físico del cosmético representa un importante riesgo para la salud de las personas, ya que en estas condiciones las alteraciones no son identificadas a simple vista, a pesar del peligro que estos productos representan pudiendo causar irritaciones o infecciones, particularmente si se aplica sobre piel lesionada, mucosas, ojos o en niños.<sup>2</sup>

Para evitar la contaminación microbiológica de los cosméticos, el fabricante deberá controlar cada una de las posibles vías de entrada de microorganismos mediante análisis de materias primas, ambiente, personal y equipos, concomitantemente, con un

plan de aplicación de buenas prácticas de fabricación. Sin embargo, incluso en estas condiciones «ideales» de fabricación y manipulación, el producto obtenido no está libre de una posible contaminación, por lo que siempre existe la posibilidad de que algún microorganismo se incorpore al producto. Sin embargo imaginemos ahora que no solo es un microorganismo que altera la preparación sino que es también un microorganismo patógeno y que causa una enfermedad de grave riesgo para la salud del usuario.

## 1.2 Formulación del Problema

¿Cómo se determinaría la calidad microbiológica de cremas cosméticas de Concha de Nácar por ausencia de patógenos comercializadas en la Galería Mesa Redonda Mayo - Agosto de 2014?

## 1.3 Objetivos de la Investigación

### 1.3.1 Objetivo General

Determinar la calidad microbiológica de crema cosmética de Concha de Nácar por ausencia de patógenos según la Norma Técnica Peruana

### 1.3.2 Objetivos Específico.

- ✓ Determinar la presencia de microorganismo patógeno *Escherichia coli* en crema cosmética de Concha de Nácar comercializada en Galería Mesa Redonda en el periodo mayo - agosto 2014.

- ✓ Determinar mediante análisis microbiológico si las cremas cosméticas comercializados en la galería Mesa Redonda cumplen con los requisitos establecidos por la Norma Técnica Peruana. NTP-ISO N° 21150-2009

#### 1.4 Hipótesis de la Investigación

##### 1.4.1 Hipótesis General

La crema cosmética cumpliría con los requisitos de calidad microbiológica establecidos por la Norma Técnica Peruana

##### 1.4.2 Hipótesis Secundarias

- ✓ El análisis microbiológico de crema cosmética demostraría presencia de microorganismo patógeno *Escherichia coli*.
- ✓ La crema cosmética cumpliría con los requisitos de ausencia de microorganismo patógeno *Escherichia coli* establecidos por la Norma Técnica Peruana NTP-ISO N° 21150-2009

#### 1.5 Justificación e Importancia de la Investigación

##### 1.5.1 Justificación

En los últimos cinco años, la demanda de productos de belleza se ha disparado no sólo en Perú sino en todo el mundo, al punto que la industria cosmética mueve en el país unos 570 millones de dólares

anuales alcanzado en el 2011 el octavo lugar en América y participa del mercado mundial con el 0.1%. La elaboración de cosméticos representa uno de los rubros industriales de mayor crecimiento en los últimos años, la fundamental participación del profesional químico farmacéutico en este que hacer profesional ha puesto de manifiesto la necesidad de implementar estrategias de control de mayor eficacia, junto con este crecimiento desbordante la demanda de estos productos está siendo satisfecha no solo por la industria formal sino también por modalidades de comercialización informal como el contrabando y la adulteración de productos de marcas con mayor rotación.

Los diversos estratos socioeconómicos en su particular dinámica comercial satisfacen sus necesidades y demandas de acuerdo a su disponibilidad económica, como productos de este fenómeno aparecen en el mercado espacios comerciales donde se comercializan productos de dudosa procedencia en condiciones distintas de las que exige la norma sanitaria. El presente trabajo de investigación revierte en justificación en la medida que pone de manifiesto la calidad microbiológica de productos cosméticos que se comercializan

libremente dirigidos a segmentos socioeconómicos populares, sin que esta condición exima la responsabilidad de aquellos comerciantes respecto de las buenas prácticas de manufactura y almacenamiento

#### 1.5.2 Importancia

La formación académica del profesional químico farmacéutico no solo está compuesta por las competencias logradas en las aulas, la posibilidad de poner en práctica los conocimientos adquiridos en el aula revierte en una importancia sin igual, más aún cuando la principal beneficiaria es la sociedad en su conjunto. Es así que en mérito de la evaluación del mercado de comercialización de cosméticos, rubro que ha manifestado interesantes crecimientos en los últimos años ha devenido en la intervención de actores comerciales que por múltiples factores no cumplen con las exigencias sanitarias que enmarcan la producción almacenaje y comercialización de productos de uso y aplicación tópica en humanos como lo son las cremas cosméticas. El impacto positivo logrado tanto en la sociedad que se beneficia con los aplicación de los controles e inspecciones llevados a cabo por el profesional Químico Farmacéutico en sus diferentes áreas de ejercicio

profesional sino también el impacto positivo logrado en la autoestima, sentido de solidaridad y responsabilidad social del profesional en relación con la sociedad de la que es parte conforman un círculo virtuoso que no debe ser visto con menor valor pues está promoviendo la conformación de una sociedad justa equilibrada y proactiva.

## CAPITULO II:

### MARCO TEORICO

#### 2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION

Según Lizcano Ramón, Andrea y Col. Bogota 2008 en su investigación Evaluación de la Actividad Microbiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos describe que el extracto de *Passiflora manicata* fue el extracto que presentó mayor efecto frente a microorganismos como *E. coli*<sup>2</sup>

Por otro lado, María De Lourdes Aceituno Martínez, Guatemala, 2006 en su investigación, Evaluación de la calidad microbiológica en sombra de ojos, tipo polvo compacto de un laboratorio de producción nacional, según método de referencia Pharmacopea USP 2005 estableció la calidad microbiológica de las sombras de ojos tipo polvo compacto, al determinarse y cuantificarse la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, recuento heterotrófico en placa y recuento de mohos y levaduras.

Para llevar a cabo dicha investigación, se delimitó el universo de trabajo, por conveniencia, 4 lotes distintos de dicho cosmético, uno de cada centro distribuidor del laboratorio seleccionado, de los cuales se analizaron 5 muestras por cada lote, dando un total de 20 muestras, luego de llevar a cabo la fase experimental, así como el análisis de resultados, se demostró la presencia de *Staphylococcus saprofiticus* como contaminante a su vez un número elevado en su Recuento Heterotrófico en Placa, lo cual indica

que los cosméticos analizados no fueron fabricados con Buenas Prácticas de Manufactura y a su vez, que no se posee una supervisión de proceso adecuada ni un análisis microbiológico riguroso, esto se evidenció en todos los lotes analizados.

Para la cuantificación de UFC (Unidades Formadoras de Colonias), se llevó a cabo la siembra del cosmético, la posterior incubación y por último el conteo en placa, el cual se basa en la suposición que las células microbianas presentes en una muestra mezclada con un medio sólido forman cada una independientemente, colonias 4 separadas. Los recuentos deben reportarse como recuentos coloniales, unidad o de unidades formadoras de colonias.

La cantidad de UFC encontrada en el Recuento Heterotrófico en Placa es mayor al permitido según lo establecido por la Pharmacopea USP 2005, así como también se logró evidenciar la presencia de *S. Saprophyticus* como contaminante.<sup>3</sup>

En tercer lugar Ligia María Guerra Bone y Col. En su investigación, Evaluación de la calidad microbiológica de cosméticos para bebés elaborados por la industria guatemalteca. Guatemala 2006. Describe la importancia del control de calidad microbiológica en este tipo de cosméticos dirigidos a infantes dando énfasis en que deben ser revisados con mucho cuidado, ya que los efectos pueden ser más nocivos para ellos que para cualquier otra población. La piel de los bebés es mucho más delgada que la de los adultos, teniendo menos estrato corneo y menos vellos. El estrato corneo es delgado porque las estructuras base se encuentran hasta ahora en fase de desarrollo. Esta piel es mucho más



susceptible a las irritaciones. En este trabajo se deciden probar muestras de diferentes laboratorios que producen cosméticos para bebés, evaluando si cumplen con lo que prometen y con las normas estatales de sanidad y toxicología, asegurando que los productos utilizados y vendidos libremente sí son seguros. Los resultados y conclusiones más importantes encontradas en este documento fueron las siguientes: Los productos analizados en el estudio se encontraron libres de agentes patógenos y cumplen con los parámetros de calidad microbiológica. Los resultados obtenidos en este estudio se encuentran validados por la elaboración de controles positivos, los cuales permitieron determinar si los procedimientos analíticos, los medios de cultivo y las pruebas bioquímicas permitían la recuperación de microorganismos presentes en las muestras y si su identificación era correcta. La única muestra que presentó crecimiento bacteriano fue sometida a un análisis posterior con el objetivo de identificar a la bacteria presente y para descartar que se tratase de *B. anthracis* o *B. cereus*, los cuales pueden ocasionar daños a la piel del consumidor, sobre todo tratándose de bebés cuya piel es mucho más sensible a los agentes bacterianos patógenos; sin embargo, los resultados de las pruebas realizadas no son compatibles con ninguna de las dos especies mencionadas. Debido a la importante función que cumplen los preservantes en los productos cosméticos analizados se puede determinar que dichos compuestos se encuentran en la concentración necesaria para lograr la inhibición del crecimiento bacteriano en el producto terminado y puesto a la venta, ya que en ninguna de las muestras se observó crecimiento bacteriano. Durante el procedimiento

analítico llevado a cabo en este estudio solamente se pudo evaluar la calidad microbiológica de las muestras, ignorándose si las mismas cumplen con los requisitos de calidad fisicoquímica y toxicológica exigidos por el Laboratorio Nacional de Salud y con las normas internacionales referentes a estos dos aspectos. <sup>4</sup>

## 2.2 BASES TEORICAS

### 2.2.1 La piel

La piel es el órgano más extenso del cuerpo, conforma la capa límite exterior entre el ser humano y el medio ambiente, actúa por una parte como barrera de las agresiones externas, y por otra como enlace estableciendo relaciones sensoriales entre el mundo exterior y los órganos internos. La piel es un órgano destinado a mantener la forma del cuerpo.

La piel surge en los primeros días de la vida del embrión humano en pocas semanas las células que se están multiplicando para formar los distintos tejidos se distribuyen en tres estratos, llamados "hojas embrionarias". Del primero se tornarán todos los órganos internos (endodérmico) y del segundo los músculos, el esqueleto, tejido adiposo y tejido conectivo (mesodermo). De la tercera hoja (ectodermo) se origina el sistema nervioso y el revestimiento del organismo y las mucosas. Pero la maduración de este preciado órgano sólo termina con el nacimiento, aunque sigue perfeccionándose también después.

### 2.2.2 Tipos de piel

La clasificación típica de los tipos de piel en cosmética es la siguiente:

- a. Piel normal
- b. Piel seca
- c. Piel grasa
- d. Piel mixta.

Tabla No. 1. Tipos clásicos de piel

TIPO DE PIEL	DESCRIPCION
a. Piel normal	Estado normal de la piel joven, de poros finos, lisa, elástica, sin brillo graso
b. Piel seca	Fina, tirante y delgada, transparente, de poros no visibles, mate, sin brillo
C .Piel grasa	<ul style="list-style-type: none"><li>• Seborreica oleosa</li><li>• Seborreica seca</li><li>• Gruesa, resistente, de brillo intenso, Con numerosos comedones.</li><li>• Sudor abundante, brillante, de grandes poros, película oleosa sobre ellos.</li><li>• Sudor reducido, escamitas brillantes y grasientas.</li></ul>

D. Piel mixta	Presente casi siempre en la “zona T” forma mixta de ambos tipos de seborrea
---------------	---

## 2.3 Funciones de la piel

2.3.1 Termorregulación: La piel regula la temperatura corporal a través de las glándulas sudoríparas y la irrigación sanguínea en tejido adiposo subcutáneo actúa como una capa aislante. En respuesta a un incremento de la temperatura ambiental o al ejercicio extenuante, la producción de la transpiración por las glándulas (sudor) ayuda a disminuir la temperatura o el calor corporal hasta el nivel normal, los cambios en el flujo sanguíneo hacia la piel también alteran las propiedades de aislamiento y ayuda a equilibrar la temperatura corporal.

2.3.2 Protección: La piel es una barrera semipermeable que posee una película superficial en la capa córnea que protege los tejidos subyacentes de la abrasión, bacterias, deshidratación y radiación UV.

2.3.3 Recepción de estímulos: La piel contiene numerosas terminaciones y receptores nervios que detectan los estímulos relacionados con temperatura, tacto, presión y dolor.

2.3.4 Excreción: Para eliminar las impurezas la piel, sin embargo, dispone de glándulas sudoríparas que cumplen la función de eliminar parte del material de desecho de las células como el sudor. Con su acción, se libera agua, sales, algunos minerales y también algunas

sustancias tóxicas. Esta función de la piel es paralela a la de los riñones y de los pulmones.

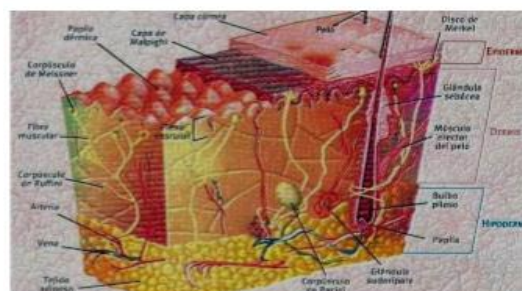
2.3.5 Queratogenesis: Función de la piel para la formación de queratina.

2.3.6 Melanogenesis: Función de la piel para la formación de la melanina.

## 2.4 Estructura histológica de la piel.

La piel está constituida por tres capas horizontales desde exterior hacia el interior podemos distinguir: la epidermis, la dermis y por último el tejido subcutáneo, hipodermis. También se consideran parte de la piel a aquellos órganos anexos a la misma como son el pelo, las uñas y las glándulas diversas.

Figura N° 1. Estructura Histológica de la piel

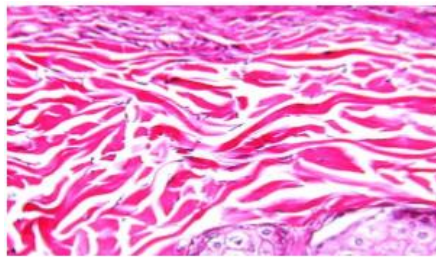


Fuente: Liliana Cardenas Vallejo; Laura Milena Rojas Gomez.2007

2.4.1 La Dermis: Tiene Tejido conjuntivo vascularizado y con abundantes terminaciones nerviosas, que histológicamente se subdivide en dos capas o estratos como se muestra en la figura N° 2, constituye la mayor parte de la piel. Las funciones principales de la Dermis son: Inmunológicas, Protección Mecánica, Termorregulación, Retención de agua y elasticidad. Esta capa le ofrece la elasticidad a la piel para que pueda adaptarse a los diferentes movimientos y fluctuaciones de volumen del organismo.

Además se encuentra capacitada, dentro de un proceso dinámico, para absorber agua y volver a expelerla. La Dermis está compuesta básicamente de Colágeno y Elastina y las fibras colágenas se distribuyen en todas las direcciones, sin embargo se orientan preponderantemente en dirección oblicua a la epidermis o paralelas a la superficie corporal. Esta parte de la piel se encarga de la reacción ante cualquier inflamación o alergia que el individuo pueda tener por medio de sustancias conocidas como Histamina además de la defensa e inmunidad contra microorganismos por parte de los leucocitos o glóbulos blancos.

Figura N° 2 Tejido conjuntivo dermis



Fuente: Liliana Cardenas Vallejo; Laura Milena Rojas Gomez.2007

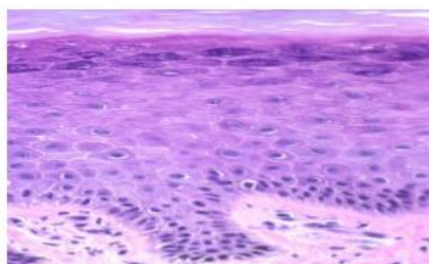
2.4.2 Epidermis: Es una delgada capa de células que constituye la parte más externa de la piel. Está constituida por diversos tipos de células, donde del 90% al 95% son queratinocitos. La epidermis es avascular y su cuidado y mantenimiento se realiza por medio de la difusión de sustancias nutritivas desde el lecho capilar de la dermis. La epidermis limita la entrada de productos químicos de la superficie de la piel a la dermis y tejidos más bajos. Es más gruesa en determinadas áreas como en la palma de las manos y plantas de los pies. Las células de la epidermis se mudan constantemente entre 12 y 14 días. La subcapa más externa de la epidermis es el estrato

córneo que está formado por células queratinizadas biológicamente inactivas que tienen un empaquetamiento muy denso.

La epidermis cuenta con componentes acuosolubles, los cuales pueden ser extraídos de la piel, esto explica la capacidad que posee la epidermis para la retención de agua y el control de la flexibilidad. La resequedad de la piel depende directamente del clima, tanto el frío como el clima seco y el aire acondicionado disminuye el contenido de humedad de la epidermis además el uso continuo de jabón y agua puede provocar lo que comúnmente conocemos como “piel seca” todo esto es controlado por medio de la humedad relativa a la que se encuentra la piel y por la presencia de agentes humectantes en la misma.

La Epidermis está compuesta por varios estratos y algunos de sus componentes celulares son: los Queratinocitos los cuales están capacitados para la regeneración de la epidermis y la síntesis de la proteína conocida como queratina. Los Melanocitos los cuales tienen como función sintetizar melanina, dar el color y pigmentación de la piel además de determinar la respuesta del individuo a la luz solar.

Figura N° 3 Células de la epidermis



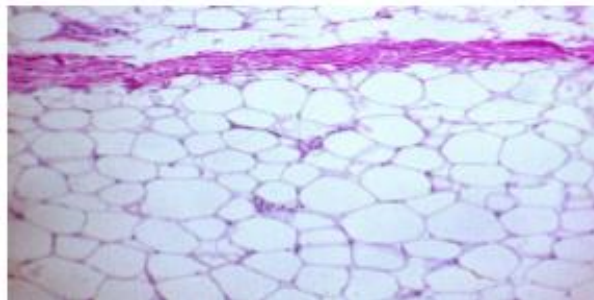
Fuente: Liliana Cardenas Vallejo; Laura Milena Rojas Gomez.2007

2.4.3 La Hipodermis: Representa el estrato más profundo de la capa corporal exterior. También se llama tejido celular subcutáneo o panículo adiposo, La grasa forma un tejido metabólico muy activo que además protege al organismo.

La proporción del tejido adiposo es variable según su localización; donde es más abundante se le denomina panículo adiposo que sirve principalmente como amortiguador contra traumas.

Las principales funciones de esta capa externa de la piel son: termorregulación, amortiguación de traumatismos, reservas de calorías, participación en el mecanismo hídrico y graso.

Figura Nº 4. Tejido adiposos unilocular en la hipodermis



Fuente: Liliana Cardenas Vallejo; Laura Milena Rojas Gomez.2007

## 2.5 Emulsiones

Una emulsión es un sistema heterogéneo formado por dos o más líquidos inmiscibles, uno de los cuales está dispersado en el otro. La fase que se encuentra en forma de gotas se denomina fase dispersa o interna mientras que la otra fase se denomina continua o externa. Tal sistema es termodinámicamente inestable, por lo tanto requiere energía para su formación, y la presencia de un tercer componente que puede ser un surfactante para acentuar la estabilidad. Las emulsiones presentan



diferentes propiedades que gobiernan el comportamiento de las mismas y es importante conocerlas antes de analizar los conceptos utilizados en la formulación físico-química de los sistemas surfactante-aceite-agua.

### 2.5.1 Propiedades de las emulsiones

#### A. Tipo de emulsión

El tipo de emulsión es una propiedad muy importante en la preparación de productos farmacéuticos y cosméticos de aplicación tópica. El tipo de emulsión influye en la liberación y penetración de los principios activos en la piel. Tomando el caso clásico de una emulsión de agua y aceite, puede haber diferentes tipos de emulsiones dependiendo de la localización de las fases de aceite y agua en el sistema disperso. Se usarán las abreviaturas W (water) y O (oil) para dichas fases, ya que en castellano las palabras agua y aceite empiezan por la misma letra.

Entre los diferentes tipos de emulsiones tenemos:

- a) Emulsiones simples Cuando las gotas de aceite (O) se encuentran dispersadas en la fase acuosa (W), la emulsión se llama O/W. Si la fase dispersada es el agua, la emulsión se llama W/O (ver figura 5a).
- b) Biemulsiones Son emulsiones que contienen dos fases dispersas diferentes, que pueden ser de la misma naturaleza (pero diferente tamaño) ó de diferente naturaleza (cualquier tamaño) (ver figura 5b).

c) Emulsiones múltiples Son sistemas complejos en el cual las gotas de la fase dispersada contienen gotas más pequeñas dispersadas que consisten en la misma fase que la fase continua. Estas son por lo tanto emulsiones dentro de emulsiones. Las emulsiones múltiples se simbolizan como W/O/W (agua-en-aceite-en-agua) ó O/W/O (aceite-en-agua-en-aceite) (ver figura 5c).

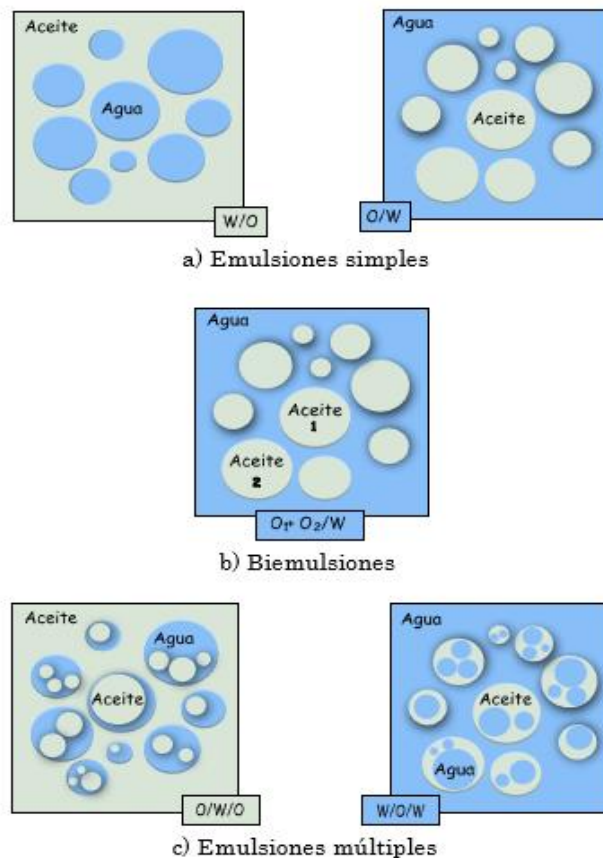
#### B. Composición de una emulsión

La composición de una emulsión influye notablemente sobre el comportamiento de la misma. Es importante tomar en cuenta que las propiedades de las emulsiones como la viscosidad, estabilidad y tamaño de gota, pueden variar de acuerdo a las cantidades relativas de fase dispersa y fase continua (referidas también como fase interna y externa respectivamente), así como del porcentaje de surfactante utilizado. Las emulsiones pueden ser consideradas en relación al porcentaje de fase dispersa como, las emulsiones de bajo contenido de fase interna: el porcentaje de fase interna se encuentra por debajo del 30% v/v. En tales emulsiones se puede considerar que hay poca interacción de las gotas entre sí, muestran un comportamiento Newtoniano a concentraciones muy diluidas, y pueden ser ligeramente pseudoplásticas a concentraciones de 10 a 20% v/v de fase interna. Las Emulsiones de contenido medio de fase interna: el porcentaje se encuentra entre 30 y 74% v/v aproximadamente. Estos límites son arbitrarios y pueden variar por encima o por debajo. Estas

emulsiones están caracterizadas por tener viscosidades altas, comportamiento reológico no-Newtoniano y normalmente alguna dificultad en alcanzar estabilidad a largo plazo. Las emulsiones de alto contenido de fase interna: las gotas de la fase interna pueden ocupar un volumen por encima del 74% v/v. A concentraciones tan altas, las gotas están literalmente en contacto y la emulsión se torna muy viscosa.

La concentración del agente emulsionante es muy variable. En la práctica, el objetivo es usar la cantidad mínima necesaria para producir una emulsión satisfactoria. Por razones de eficiencia y de costo se usa en general un emulsionante compuesto de una mezcla de varios surfactantes.

Figura N° 5. Diferentes tipos de emulsión



Fuente: Jimmy W. Rodríguez L.2004

## 2.6 Cosméticos

El término “Cosmético” se aplica a todas las preparaciones y elementos de uso externo para acondicionar y embellecer el cuerpo, limpiando, coloreando, suavizando o protegiendo la piel, el pelo, las uñas, los labios o los ojos.

Según la Comunidad Andina de Naciones (CAN), se entenderá como producto cosmético toda sustancia o formulación de aplicación local a ser usada en las diversas partes superficiales del cuerpo humano: epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos o en los dientes y las mucosas bucales, con el fin de limpiarlos, perfumarlos, modificar su aspecto y protegerlos o tenerlos en buen estado y prevenir o corregir los olores corporales. (Comunidad Andina de Naciones, 2002)

Los productos cosméticos son sustancias o preparados destinados a ser puestos en contacto con las diversas partes superficiales del cuerpo humano (epidermis, sistema piloso o capilar, uñas, labios, etc.) o con dientes y mucosas con el fin de limpiarlos, perfumarlos, modificar su aspecto, protegerlos o mantenerlos en buen estado, sin afectar la estructura o función del cuerpo.

La administración federal de Alimentos, Drogas y Cosméticos de los Estados Unidos (FDA) define a los cosméticos como artículos dirigidos a ser aplicados para la limpieza, embellecimiento o promotores de atractivos o modificaciones a la apariencia del cuerpo humano sin provocar afecciones a la estructura del organismo o sus funciones. Esta definición incluye cremas para el cuidado de la piel, lociones, talcos, spray, perfumes, lápiz labial, barniz de uñas, maquillajes faciales y para los ojos,

permanentes, tintes para el cabello, desodorante, productos para bebés, aceites de baños, geles de baño, así como cualquier material cuyo uso esté encaminado a ser un componente de productos cosméticos.

Algunos productos también pueden ser medicamentos si tienen el propósito de curar, mitigar, tratar o prevenir alguna enfermedad. Ejemplos típicos los constituyen las pastas de dientes, los desodorantes antitranspirantes o las cremas de protección solar y algunos otros cosméticos medicados.

#### 2.6.1 Productos Cosméticos Naturales

Los productos llamados «naturales» han entrado con fuerza en el mercado cosmético. Cada día hay más consumidores que se sienten atraídos por la riqueza en activos de las formulaciones.

Los cosméticos naturales están elaborados, en su mayoría, de componentes que se obtienen de las plantas, principalmente, los metabolitos secundarios como terpenoides, saponinas, aceites esenciales, ácidos grasos, quinonas, etc.

#### 2.6.2 Cualidades que debe cumplir un producto cosmético:

Cualquier formulación cosmética debe cumplir con cinco características básicas:

- Respetar la integridad de la piel
- Mantener su pH fisiológico o permitir un rápido retorno a la normalidad.
- Ser bien tolerada y de una perfecta inocuidad toxicológica y microbiana para quien la utilice.
- Tener una textura agradable.

- Ser de fácil utilización.

### 2.6.3 Composición General de los Productos Cosméticos:

Un producto cosmético se compone de cuatro elementos básicos:

#### A. Excipiente:

La función de un excipiente es servir de soporte del o de los principios activos. La composición del excipiente permitirá la penetración del activo a través de la piel. Algunos excipientes favorecen una acción exclusivamente superficial, mientras que otros permiten la difusión de los activos a través del estrato córneo, hasta nivel dérmico, etcétera.

#### B. Principios activos:

Los principios activos son los responsables de la eficacia del producto cosmético. Algunos ejemplos son el colágeno como hidratante, el alumbre como astringente, los cinamatos como filtros solares, etcétera.

#### C. Coadyuvantes:

Estos compuestos son indispensables en los productos cosméticos pues actúan como conservadores, estabilizantes y humectantes. Los conservadores son antisépticos y antioxidantes, los estabilizantes son gelificantes y espesantes y los humectantes son sustancias añadidas con el fin de evitar que la preparación pierda agua. Los coadyuvantes cuya función es prevenir la alteración química o microbiológica son de gran importancia, ya que muchas de las sustancias utilizadas en la

fabricación de cosméticos son susceptibles a la degradación biológica por microorganismos.

Los individuos normalmente sanos poseen considerable resistencia a la infección por bacterias y hongos normalmente localizados en su piel y medio ambiente habitual, pero en individuos sensibles, por ejemplo los recién nacidos, ancianos, enfermos o personas en tratamiento terapéutico, existe una probabilidad mayor de desarrollo de infecciones. Por lo tanto, los conservantes se añaden a los cosméticos por dos razones: primero, para evitar su deterioro, es decir para prolongar la vida comercial del producto y segundo, para proteger al consumidor de la posibilidad de infección.

Un conservante es una sustancia antimicrobiana que se añade a un producto en cantidades muy pequeñas (entre 0,0007% y 1% del principio activo, dependiendo del producto) durante el proceso de fabricación. Está diseñado para proteger a los productos frente a la contaminación por microorganismos durante la fabricación, almacenaje y uso cotidiano.

Los preservantes no deben emplearse con el fin de eliminar microorganismos que provienen de materia prima de baja calidad o cuyo proceso de producción es deficiente, ya que con ello se violarían las normas de procedimientos de operación, basadas en las Buenas Prácticas de manufactura.

Idealmente, un preservantes debe poseer las siguientes características:

- Excelente actividad contra todos los microorganismos que puedan afectar al producto.
- No debe ser tóxico ni debe irritar la piel del consumidor.
- Debe ser estable, para poder resistir los procesos de producción, así como la vida útil del producto.
- No debe ser inhibido por los ingredientes de la formulación sobre la cual se añadirá.

#### D. Aditivos:

Los aditivos más comunes son los perfumes y los colorantes, que unas veces son facultativos y otras son imprescindibles. Las materias aromáticas son sustancias formadas por moléculas volátiles que permiten la percepción de un olor.

#### 2.6.4 Clasificación de los productos cosméticos:

En función de sus propiedades cosmetológicas, los cosméticos pueden clasificarse en:

- Productos de tocador y de higiene de la piel y faneras.
- Productos de maquillaje.
- Productos de coloración y decoloración usados en tratamientos cosméticos.
- Depilatorios.
- Perfumes.
- Productos solares.

En cuanto al grupo etéreo a quien están dirigidos los productos cosméticos, pueden clasificarse en:



- Productos para bebés y niños de corta edad, incluyendo productos de higiene personal.
- Productos para jóvenes, en especial de uso facial.
- Productos para personas adultas y ancianos, en especial humectantes de la piel.

Los productos cosméticos para bebés incluyen polvos, aceites, lociones, cremas, pomadas para alergias, champús y jabones.

En esta sección se tratará sobre los productos dirigidos a bebés y niños de corta edad. El término “bebé” se utilizará para designar a aquellos niños comprendidos entre las dos semanas después del nacimiento y el primer año de vida.

Muchos estudios han determinado que la piel de los bebés es muy diferente histológica y fisiológicamente a la de los adultos, ya que es mucho más delgada, contiene menos estrato córneo y menos vellos. El estrato córneo es delgado debido a que las estructuras de soporte están parcialmente desarrolladas. En general, la piel de los recién nacidos y bebés es mucho más susceptible a las irritaciones e infecciones debido especialmente a que el sistema inmunológico no se encuentra totalmente desarrollado. Es por ello que el cuidado apropiado de la piel de los bebés en los hospitales así como en casa constituye un importante problema pediátrico.

Actualmente se encuentran a la venta diversos productos cosméticos y de aseo personal para bebés, los cuales deben garantizar estar exentos de bacterias en el momento de su

comercialización y contener sistemas de preservación adecuados para prevenir la contaminación accidental durante su uso.

#### A. Aceites:

Estas preparaciones están compuestas por aceite mineral y aceites vegetales usados separadamente o en combinación. Algunos aceites contienen hexaclorofeno como antiséptico y un antioxidante como el tocoferol para retardar la rancidez de los aceites. Se utilizan para limpiar la piel del bebé así como las superficies expuestas al roce del pañal y sirven como lubricantes, también actúan como una barrera hidrofóbica contra la orina.

#### B. Lociones:

Las lociones son soluciones de agua y alcohol utilizadas para cubrir la piel con una película delgada que actúa como fuente de hidratación. Las lociones para bebés están formuladas para prevenir la aparición de rash, proveer un olor agradable a la piel del bebé, suavizar e hidratar la piel y prevenir la fricción y consecuente irritación.

#### C. Cremas:

Las cremas consisten básicamente de emulsiones producidas por la mezcla y agitación vigorosa de dos líquidos de diferentes características a fin de unirlos en pequeños glóbulos o partículas que serán mantenidos en suspensión por la adición de un agente emulsificante. Las cremas para bebés tienen una alta proporción de aceite, lo cual provee de lubricación y humectación a la piel.

Son aplicadas generalmente después del baño para prevenir daños en la piel ocasionados por cambios de temperatura y humedad.

También existen cremas medicadas, conocidas como “pomadas” las cuales contienen óxido de cinc, antisépticos, fungicidas, antibióticos, vitaminas y ácidos grasos. Estas cremas son utilizadas para prevenir las irritaciones provocadas por el uso del pañal, en especial por el uso del pañal desechable.

#### D. Polvos:

Los polvos son productos en forma sólida muy fina que fluye libremente, son inocuos y absorbentes. Pueden contener perfume y en ocasiones algún ingrediente medicado. Los polvos para bebés se aplican sobre la piel y aceleran la evaporación de la transpiración, proveen de agentes lubricantes cuando son aplicados en el cuello y axilas y evitan la irritación en áreas de contacto con el pañal.

#### E. SHAMPOO:

El shampoo es una mezcla de agentes emulsionantes y detergentes que actúan sobre el cuero cabelludo con el fin de limpiarlo, eliminar el exceso de grasa y preservar la elasticidad y salud del pelo. En los shampoo para bebés el requerimiento fundamental es proporcionar suavidad al cabello sin reseca el cuero cabelludo. La suavidad se logra seleccionando agentes tensoactivos no irritantes que proporcionen detergencia limitada.

### 2.6.5 Tipos de Cosméticos

Según la Gaceta Oficial N° 771 de la Comunidad Andina de Naciones, se consideran la siguiente clasificación:

Tabla 2 Tipos de Cosméticos

TIPOS DE COSMÉTICOS
✓ Cosméticos para niños
✓ Cosméticos para el área de los ojos
✓ Cosméticos para la piel
✓ Cosméticos para labios
✓ Cosméticos para el aseo e higiene personal
✓ Desodorantes y antitranspirantes
✓ Cosméticos capilares
✓ Cosméticos para las uñas
✓ Perfumería
✓ Cosméticos para Higiene bucal y dental
✓ Cosméticos para y después del afeitado
✓ Cosméticos para bronceado, protección solar y autobronceadores
✓ Depilatorios
Cosméticos para el blanqueo de la piel

*Nota: Gaceta Oficial No. 771/14-III-2002. En: Comunidad Andina de Naciones*

Todavía no existe una clasificación específica que incluya a los cosméticos de origen natural.

### 2.6.6 Cremas

Las cremas forman la clase más importante de preparados cosméticos utilizados sobre la piel, para su cuidado y tratamiento. Aunque existe una amplia variedad, toda verdadera crema se compone fundamentalmente de una emulsión entre sustancias oleosas y acuosas que se encuentran en una forma sólida o una líquida. Esto da lugar a la formación de “*cremas base*”.

#### A. Clasificación

Una de las clasificaciones de las cremas, en la que se toma en cuenta las características fisicoquímicas, son las del tipo de emulsión que forman y se clasifica en: Hidrófilas y Lipófilas

Tabla N° 3

<b>CREMA</b>	<b>EMULSION</b>
Crema Hidrófilas	Aceite - Agua
Crema Lipófilas	Agua – Aceite

A su vez, las cremas cutáneas mencionadas según su uso pueden ser:

- De Limpieza
- De Masaje o Protectoras
- Emolientes o Nutritivas
- Para manos y cuerpo

## B. Propiedades de las Bases para Cremas

La USP reconoce cinco clases de bases para cremas, siendo sus principales características, las que se nombran a continuación:

- ✓ Bases Hidrocarbonadas (Oleosas): sus características son:
  - Emolientes
  - Oclusivas
  - Hidrófobas
  - Untuosas
- ✓ Bases de Absorción (Anhidras): sus características son:
  - Emolientes
  - Oclusivas
  - Absorben agua
  - Anhidras
  - Untuosas
- ✓ Bases de Absorción (Tipo W/O): sus características son:
  - Emolientes
  - Contienen agua
  - Algunas absorben agua adicional
  - Untuosas
- ✓ Bases Emulsificadas con Agua (Tipo O/W): sus características son:
  - Removibles con agua
  - Pueden ser diluidas con agua
  - No oclusivas

- No untuosas
- ✓ Bases Hidrosolubles: sus características son:
  - Usualmente anhidras
  - Hidrosolubles y lavables
  - No untuosas
  - No oclusivas
  - No contienen lípidos

### C. Características de los Principios Activos empleados

La cosmética dermatológica es muy amplia, incluyen astringentes, queratoplásticos, queratolíticos, fotoprotectores, emolientes, antiarrugas, limpiadores, tónicos, etc. Entre las exigencias o características que debe presentar el principio activo tenemos:

- Buena absorción sobre la piel.
- No debe provocar irritación ni reacciones de hipersensibilidad.
- Compatibilidad con los excipientes.
- Estabilidad fisicoquímica y microbiológica.

Las materias primas para la elaboración de cosméticos deben ser cuidadosamente estudiadas y caracterizadas en todos sus diversos componentes, ya que todo producto cosmético debe cumplir con la INCI (Nomenclatura Internacional de Ingredientes en la Cosmética). Esta declaración de ingredientes debe ser completa y exhaustiva de tal forma que en ella estén incluidos todos los componentes específicos de la

formulación. Se pretende con ello que el consumidor tenga así una mínima orientación con respecto al producto que adquiere.

#### D. Conservadores Antimicrobianos

Las sustancias conservadoras antimicrobianas se incluyen en la fórmula de las cremas para mantener la estabilidad del producto.

La incorporación de conservantes en las formulaciones cosméticas es necesaria debido a que, los cosméticos en general, son una excelente fuente de nutrientes para bacterias, hongos y levaduras.

Diversos autores han definido los atributos de un conservador ideal:

- Efectivos en concentraciones relativamente bajas frente a un amplio espectro o variedad de microorganismos, que podrían causar enfermedad o deterioro del producto.
- Solubles en la concentración requerida.
- Atóxicos y no sensibilizantes en las concentraciones usadas.
- Compatibles con los componentes de la fórmula y los componentes del envase.
- Libres de olores o colores objetables.
- Estables en un amplio espectro de condiciones.

La eficacia antimicrobiana de un sistema conservador se evalúa sobre la base de la cantidad de microorganismos eliminados o cuyo crecimiento es inhibido. Los puntos críticos para evaluar su eficacia son: la selección del microorganismo,



el nivel de microorganismos en el inóculo, el esquema de muestreo y la interpretación de datos.

#### 2.6.7 Origen de la Contaminación:

Según un informe de la Administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos, FDA, no se supone que los cosméticos estén totalmente libres de microorganismos cuando se usan por primera vez. Tampoco que permanezcan libres de ellos mientras los usa el consumidor. Cada vez que se abre un paquete nuevo los microorganismos que están en el aire llegan al producto. Sin embargo, aquellos productos que tienen los preservantes adecuados eliminan estos microorganismos y permiten que el producto sea seguro. Normalmente el origen de la contaminación de los productos nuevos proviene de alguna o algunas de las siguientes fuentes:

1. Materia prima
2. Medio ambiente
3. Equipo utilizado durante su fabricación
4. Material de envase primario
5. Personal que manipula el producto

La materia prima es de gran importancia, ya que para la elaboración de muchos productos cosméticos la materia prima incluye productos derivados de origen animal, tales como extractos de órganos, placenta, hígado, glándulas mamarias, corazón, y otros ingredientes que son encontrados en tejidos animales, tales como glucosaminas, lípidos bovinos, proteínas, aminoácidos y más

recientemente esfingolípidos aislados del sistema nervioso. Estos tejidos se encuentran expuestos a la microbiota normal de los animales a los cuales se les extrajeron, así como a la microbiota contaminante de otros órganos como intestinos o piel, por lo que deben ser esterilizados antes de su uso a nivel cosmético.

Las materias primas son de gran importancia para un producto cosmético, por lo cual deben estar libres de microorganismos y de sustancias químicas indeseables, deben ser estables a luz y calor, ser resistentes a la oxidación del aire y con características químicas y físicas constantes y reproducibles. Con frecuencia los productos naturales son más propensos a la proliferación microbiana. Los extractos de plantas pueden contener esporas microscópicas que pueden llegar a germinar en el producto final. Incluso el agua, que es uno de los ingredientes más extensamente usados, es responsable de más del 90% de todos los casos de contaminación. El medio ambiente y el equipo influyen en gran medida, ya que dentro de la planta de producción de cosméticos deben guardarse las más estrictas medidas de higiene y desinfección pues la contaminación puede ser introducida por prácticas deficientes en la sanitización y limpieza de las áreas por donde se maneja tanto la materia prima como el producto terminado.

Por muy cuidadosamente que se elaboren los cosméticos y artículos de tocador, por naturaleza el producto final contendrá pequeñas cantidades de microbios que, bajo ciertas condiciones, pueden multiplicarse rápidamente.

Es importante destacar que un estricto control de las buenas prácticas de manufactura evitará que la contaminación sea introducida a un producto a través de la manipulación que lleva a cabo el personal, para esto es necesario cumplir con monitoreo de manos y llevar un estricto control del personal que está autorizado para ingresar a la planta de producción.

#### A. Importancia clínica de la contaminación:

Aunque el riesgo de llegar a enfermar a raíz de cosméticos o artículos de tocador contaminados es muy bajo, las bacterias presentes en estos productos pueden provocar irritaciones o infecciones, especialmente si el producto entra en contacto con piel lesionada.

Cerca del 2 al 4 % de las consultas dermatológicas son debidas a dermatitis causadas por cosméticos. Las reacciones adversas afectan no solo la piel en forma de irritación o descamación sino también como conjuntivitis, asma, urticaria, angioedema o neumonía.

Según información de la FDA, agencia que también regula los cosméticos, es raro que se reporten daños serios causados por cosméticos, aunque se siguen registrando casos como infecciones de ojos, alergias y problemas de irritación de la piel. Dentro de las infecciones de la piel se pueden mencionar piodermias, foliculitis, ectima, candidiasis y la dermatitis atópica. Los agentes bacterianos que se asocian comúnmente con estos

cuadros patológicos son principalmente *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

La contaminación microbiológica en productos cosméticos, para el baño y el cuidado personal ha constituido una gran preocupación en la industria por muchos años. Bacterias, levaduras u hongos, todos causan descomposición microbiológica. Todos son extremadamente diversos en sus actividades metabólicas y estas reacciones metabólicas pueden causar problemas de salud debido a que la degradación del producto puede ser tóxica o mutagénica.

Varios microorganismos producen sustancias de desecho tóxico que hacen que el producto no sea adecuado y peligroso si crece bajo ciertas condiciones que ayudan a la producción de toxinas. Las endotoxinas, producidas por las bacterias Gram negativo, no son necesariamente desactivadas por esterilización, ya que son estables al calor. Para seleccionar un sistema de protección microbiológico aceptable para uso en un producto cosmético, el fabricante debe estar familiarizado con la composición, morfología, ecología y diversidad de los microorganismos y sus influencias en la vida diaria. Este conocimiento le permitirá interpretar el mecanismo de acción del organismo involucrado y resolver eficientemente la contaminación resultante.

Los microorganismos Gram negativo, en particular *Pseudomonas aeruginosa*, parecen ser los microorganismos

más frecuentemente aislados en los cosméticos. Aunque también pueden verse contaminados con frecuencia por *estafilococos*, *difteroides*, hongos y levaduras. Ciertos preparados cosméticos,

Tales como cremas y lociones son ampliamente utilizados en los hospitales, y ya que los pacientes son probablemente más sensibles a las infecciones que los individuos sanos, el estado microbiológico de estos cosméticos pueden tener importantes implicaciones.

Quizá el ejemplo más sorprendente de esto fue la investigación realizada por Morse et. Al de un brote de septicemia causado por *Klebsiella pneumoniae* en una unidad de cuidados intensivos de un hospital, el origen de la cual resultó ser un frasco de crema de manos con lanolina contaminada.

Como pueden confirmar los dermatólogos, el riesgo de infecciones cutáneas originadas por bacterias patógenas, que puedan multiplicarse en productos cosméticos y de cuidado para la piel indebidamente conservada, puede representar un riesgo más serio para la salud que las reacciones alérgicas.

Es por ello que para aprobar y considerar un producto cosmético como apto para el uso o consumo humano, se requiere la comprobación de las características microbiológicas, así como de las características físicas, químicas y toxicológicas.

La habilidad de los microorganismos para crecer y reproducirse en cosméticos ha sido estudiada por muchos años, y se sabe

que esta contaminación puede producir cambios químicos en los productos, así como daños al consumidor. Los métodos de aislamiento e identificación de microorganismos en cosméticos son el recuento total de colonias y los cultivos de enriquecimiento. También se llevan a cabo diluciones y plaqueo en medios selectivos que inactiven los agentes de preservación comúnmente utilizados en la fabricación de cosméticos. Los microorganismos aislados se identifican por métodos microbiológicos de rutina o por kits comerciales de identificación similares a aquellos empleados en microbiología clínica.

#### B. Parámetros de Calidad Microbiológica:

En Guatemala no existen parámetros de cumplimiento obligatorio respecto a los niveles permisibles de bacterias en productos cosméticos, sin embargo se trabaja con base en los niveles adoptados por el Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala. Esta institución trabaja los cosméticos como productos farmacéuticos no estériles y permite los siguientes recuentos microbianos aceptados por la Farmacopea de los Estados Unidos y por FDA:

Productos para el área de los ojos.....<500 UFC/g ó mL

Productos para fuera del área de los ojos.....<1000 UFC/ g  
ó mL

*Staphylococcus aureus*..... Ausencia

*Pseudomonas aeruginosa*..... Ausencia

*Escherichia coli*.....Ausencia

*Clostridium sp.*.....Ausencia

La Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA), recomienda el análisis microbiológico, fisicoquímico y toxicológico de los productos cosméticos. El examen microbiológico incluye la dilución y el plaqueo con medios de cultivo que inactiven los preservantes utilizados en la fabricación, luego se realiza el recuento total, la investigación de mohos y levaduras, el recuento e identificación de *S. aureus* y el recuento de microorganismos anaerobios.

El parámetro adoptado por MERCOSUR en cuanto a la calidad microbiológica de los productos cosméticos para uso infantil es que dichos productos deben poseer recuentos de microorganismos mesófilos aerobios inferiores a 10<sup>2</sup> UFC/g ó ml, con un límite máximo de 510 UFC/g ó ml. Además, deben estar ausentes por gramo o mililitro de muestra: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, coliformes totales y fecales y *clostridios* sulfito reductores, estos últimos exclusivamente para talcos.

En Cuba, se lleva a cabo una evaluación sanitaria anual de los productos cosméticos producidos a nivel local y de importación. Dicha evaluación incluye el análisis microbiológico, el cual comprende el conteo total de microorganismos *aerobios mesófilos*, el conteo de *coliformes* y la identificación de *Clostridium perfringens*. Los resultados publicados hasta 1999 determinaron que de los productos elaborados en la isla, el 0.6%

presentó contaminación bacteriana, siendo los principales productos contaminados las cremas elaboradas a base de fango.

En el caso de Guatemala, se cuenta con la norma COGUANOR 30 023, la cual incluye las especificaciones y características que debe cumplir el polvo de talco para bebés y niños de corta edad producido en el país o en el extranjero para ser utilizado como materia prima en la elaboración de talco para bebés. Los criterios microbiológicos que incluye esta norma son los siguientes:

Recuento de microorganismos aerobios mesófilos en placa.....	<500 UFC/ g
Microorganismos <i>anaerobios</i> .....	0 UFC/ 10g
<i>Staphylococcus aureus</i> .....	0 UFC/ 10g
<i>Bacterias coliformes</i> .....	0 UFC/ 10g
<i>Salmonella sp.</i> .....	0 UFC/ 10g
<i>Pseudomonas sp.</i> .....	0 UFC/10g

#### C. Metodologías de Análisis Microbiológico:

El primer análisis microbiológico que se lleva a cabo es el conteo directo de colonias aisladas del medio de cultivo Lethen modificado, el cual debe ser empleado en forma de caldo para la elaboración de diluciones y en forma de agar sólido para los recuentos.

El medio Lethen modificado está constituido por agar tripticasa soya que es un medio nutritivo; lecitina que actúa como un agente inhibidor de compuestos de amonio



cuaternario utilizados como preservantes; polisorbato 80 (tween 80) que anula los compuestos fenólicos, hexaclorofenos y formalina. El tween 80 y la lecitina neutralizan al alcohol etílico, favoreciendo el crecimiento bacteriano en las muestras que se encuentren contaminadas.

Las diluciones decimales recomendadas por la FDA se realizan a partir de una porción de 1 gramo o 1 mililitro de la muestra añadida a 9 mililitros de caldo Letheen modificado. Si el cosmético es sólido, polvo, cremoso o aceitoso se recomienda la adición de 1 mililitro o gramo de la muestra a un tubo con 8 mililitros de caldo más 1 mililitro de tween 80.

El recuento aeróbico se realiza por la técnica de esparcido, ya que esta técnica facilita el reconocimiento de diferentes tipos de colonias así como el recuento diferencial. La técnica de esparcido consiste en agregar de 0.1 a 0.5 mililitros de cada dilución a una caja de Petrie conteniendo el medio de cultivo previamente desecado en la incubadora a 37 °C, luego la muestra se esparce por la superficie del medio utilizando una varilla de vidrio estéril en forma de L. El recuento se realiza en agar Letheen modificado y también puede utilizarse agar Vogel Jonson si se sospecha de *Staphylococcus spp.* Se deben preparar duplicados en cajas de Petrie de cada dilución preparada. Las diluciones decimales que se siembran también pueden ser elaboradas agregando 5 ó 10 gramos o mililitros del cosmético a 45 ó 90 mililitros de caldo Letheen.

Se deben contar las colonias encontradas en las cajas que contengan entre 30 y 300 colonias y registrar los resultados por dilución. El número de colonias se multiplica por el factor de dilución, reportando los resultados como Unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo o mililitro de muestra. Si las cajas no presentan crecimiento se reporta únicamente como menor de la dilución más baja sembrada.

Para las cajas que contienen agar Vogel Jonson, se deben buscar colonias convexas, negras, brillantes con o sin un halo claro alrededor. Para demostrar la presencia de *Staphylococcus aureus* se debe picar una o más colonias típicas y realizar las pruebas de catalasa y coagulasa. Para la prueba de catalasa se debe emplear peróxido de hidrógeno al 30% y para la prueba de coagulasa se debe inocular un tubo de caldo BHI con una colonia típica e incubar por 24 horas a 37 °C. Después de este tiempo se debe añadir al tubo con el medio 0.5 mililitros de plasma humano, esta mezcla se incuba por 4 a 24 horas a 36 °C. Un coágulo bien formado indica un resultado positivo.

Si no se observan colonias en el agar Lethen modificado o en Vogel Jonson, se deben preparar diluciones de enriquecimiento e incubarlas por 7 días, observándolas diariamente. Después de los 7 días o cuando se sospecha crecimiento se subcultivan los caldos en cajas conteniendo agar Lethen modificado y en cajas conteniendo agar

MacConkey. Ambos medios se incuban 48 horas a 30 +/- 2 °C. Si hay crecimiento luego del enriquecimiento, se elaboran frotos de Gram de las colonias y se procede a realizar las pruebas de identificación señaladas más adelante en la metodología. Si no hay crecimiento, el cosmético se encuentra libre de agentes bacterianos.

Como un procedimiento regular muchas fábricas de cosméticos usan el método de desafío microbiano. En este ensayo, las muestras de cosméticos son inoculadas con organismos bajo estudio y luego inspeccionadas visualmente y por el uso de un recipiente de conteo donde se determina si la reducción bacteriana ha tenido lugar. Los microorganismos son ofrecidos por la organización American Type Culture Consumer (ATCC), aunque algunos microorganismos resistentes de la planta de manufacturado de cosméticos son también ensayados. Los géneros más notorios incluyen *Pseudomonas aeruginosa* y otros microorganismos Gram-negativo, bacterias Gram-positivo, *Staphylococcus sp.* Y varias levaduras y mohos. La duración del ensayo puede involucrar de dos a tres semanas hasta varios meses. El método además sigue la recomendación de la CTFA (Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association) y ASTM (American Society for Testing and Materials) de efectuar dos desafíos varias semanas aparte. Otro ensayo muy reproducible ha sido el de desafíos múltiples, en el cual todas las formulaciones son desafiadas a extinción;

por ejemplo, hasta que los microorganismos son rutinariamente recuperados de las muestras bajo ensayo. Una opinión se emite después del mínimo número de desafíos que no produce recuperación. Tres sucesivos positivos deben ser considerados una indicación de falla con el sistema.

## 2.7 Control de Calidad para Cosméticos

Los cosméticos de origen natural son manejados dentro de los parámetros normales para cosméticos, sin importar el origen de sus principios activos (sintéticos o naturales).

### 2.7.1 Controles Organolépticos

Las características organolépticas determinan los parámetros de aceptación del producto por el consumidor. De un modo general, se evalúan:

- Aspecto
- Color
- Olor
- Sabor
- Sensación al tacto

### 2.7.2 Controles Físico - Químicos

Es importante para estudiar alteraciones en la estructura de la formulación que no son comúnmente perceptibles a simple vista. Estos análisis pueden indicar problemas de estabilidad entre los ingredientes o resultado del proceso de fabricación.

Los análisis físico-químicos principales son:

- Valor de pH
- Materiales volátiles
- Contenido de agua
- Viscosidad
- Tamaño de la partícula
- Densidad
- Granulometría
- Conductividad eléctrica
- Humedad
- Contenido de activo

Cuando se considere necesario, hay diferentes técnicas analíticas que pueden ser utilizadas en la determinación cuantitativa de los componentes de la formulación, entre ellas:

- Espectrofotometría de Ultravioleta-Visible (UV-Vis) e Infrarrojo (IV)
- Cromatografía (capa delgada, gaseosa y líquida de alta eficiencia)
- Electroforesis capilar, entre otras.

### 2.7.3 Control Microbiológico

El control microbiológico se considera de gran importancia, ya que en estos productos se pueden presentar las condiciones necesarias para la multiplicación de microorganismos capaces de deteriorar al producto o, lo que es peor, afectar la salud del consumidor.

El ensayo del producto terminado es una medida de la buena práctica de fabricación, por lo que se deben tomar las precauciones apropiadas frente a los riesgos de contaminación que pueden afectar a los cosméticos.

El significado de los microorganismos en los productos no estériles debe ser evaluado en términos del uso del producto, naturaleza del producto y riesgo potencial para el usuario.

El Manual de Bacteriología Analítica (BAM) indica una serie de lineamientos para la manipulación y evaluación de las muestras de productos cosméticos que van a ser sometidos a un análisis microbiológico.

Las especificaciones según la USP 34 (2011) para la determinación de Límites Microbianos y Microorganismos patógenos en Productos No Estériles se indican que están a continuación:

❖ Especificación de Límites Microbianos para Cosméticos

Tabla N°4

<b>PRODUCTO COSMÉTICO</b>	<b>DETERMINACIÓN</b>	<b>ESPECIFICACIÓN</b>
Para Bebé	✓ Recuento Total de <i>Mesófilos aerobios</i>	$\leq 10^2$
	✓ Recuento Total de	$\leq 10^2$

	Mohos y Levaduras	
Para contorno de ojos	✓ Recuento Total de <i>Mesófilos aerobios</i>  ✓ Recuento Total de Mohos y Levaduras	No más de $5 \times 10^2$    $\leq 10^2$
Todos los otros	✓ Recuento Total de <i>Mesófilos aerobios</i>  ✓ Recuento Total de Mohos y Levaduras	$\leq 10^3$    $\leq 10^2$

*Nota: Límites de Contenido Microbiológico de Productos*

*Cosméticos, 2011 / (USP 34, 2011). \* Expresados en ufc/g o ml*

❖ Especificación de Microorganismos Patógenos

Tabla N° 5 Especificación de Microorganismos Patógenos

<b>Microorganismo</b>	<b>Especificación</b>
Staphylococcus aureus	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	Ausente
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausente
Coliformes Totales y Fecales	Ausente

*Nota: (USP 34, 2011) / (CTFA, 2001)*

*\*En Productos No Estériles.*

De acuerdo a los parámetros mencionados, a continuación se explican más detalladamente cada uno de estos análisis microbiológicos:

A. Recuento Total de Bacterias (RTB)

Permite determinar indirectamente el número de microorganismo presentes en una muestra. Este método se fundamenta en el crecimiento de los microorganismos en un medio de cultivo, en placa, formando colonias. Por lo tanto se determinan por este método sólo las células microbianas viables en las condiciones de trabajo. Como las colonias Pueden originarse tanto de una célula como de un grupo de células, se utiliza el término Unidades Formadoras de Colonias (ufc).

Las condiciones óptimas de recuento se dan cuando desarrollan entre 30 y 300 colonias por placa. Esta regla



general se usa siempre que no haya una especificación diferente.

#### B. Recuento Total de Mohos y Levaduras (RTML)

Igualmente que el anterior método, permite la determinación del número de Hongos y Levaduras presentes en una muestra que se identifica por el crecimiento en un medio de cultivo específico. Las células presentes se conocen como Unidades Formadoras de Mohos (ufm).

#### C. Número más probable (NMP) de Coliformes Totales

Este método proporciona un recuento de células microbianas viables. Se basa en el principio de que una única célula viva puede desarrollarse y producir un cultivo turbio. El NMP requiere la realización una serie de diluciones seriadas al décimo de la muestra de cultivo, en un medio líquido adecuado para el crecimiento de dicho organismo. El método del NMP se utiliza para contar microorganismos que son difíciles de cultivar en medio sólido. También se usa para determinar el número de células de un cultivo mixto que pueden crecer en un medio líquido determinado. Los distintos métodos de NMP para Coliformes totales se basan, en primera instancia, en una selección de los microorganismos que producen, por efecto de la fermentación, dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) a  $35^\circ\text{C}$ . Por ello, el primer paso es siempre la siembra en tubos que contengan caldo lactosado, con campana de fermentación para recoger el gas que pueda producirse. A esto sigue una confirmación en

un medio líquido selectivo y/o una determinación de los Coliformes fecales cuya diferenciación se realiza en base al hecho de que pueda producir CO<sub>2</sub> en un medio apropiado cuando se incuba a 44,5°C mientras que los demás Coliformes no pueden producir CO<sub>2</sub>.

#### D. Identificación de Microorganismos Patógenos

##### ➤ *Staphylococcus aureus*.

Los estafilococos son células esféricas, de 0.5 a 1.5 µm de diámetro, que pueden ser individuales, en pares o grupos. No tiene movilidad y no forma esporas, es anaerobia facultativa y de metabolismo fermentativo. Las colonias habitualmente son opacas y de color blanco o crema, a veces, amarilla a naranjas. Es catalasa positiva, oxidasa negativa y con frecuencia reduce el nitrato y a nitrito. Crece en medios con 10% de cloruro de sodio

La temperatura óptima de crecimiento es 30 – 37°C.

Después de la incubación en agar-sangre, *S. aureus* produce colonias blancas que tienden a adoptar un color amarillo dorado con el paso del tiempo. Casi todas las cepas tienen un borde de hemólisis beta claro que rodea la colonia. El estudio más usado para distinguir a *S. aureus* de otros estafilococos es la producción de coagulasa, que se fija de manera no enzimática a la protrombina y forma con ella un complejo que inicia la polimerización de la fibrina.

Dentro de las enfermedades en la piel más relevantes que produce esta bacteria están: el impétigo, síndrome de la piel escaldada y foliculitis.

➤ *Pseudomona aeruginosa*

Son células planas o ligeramente curvadas, de 0.5 – 1.0 x 1.5 – 5.0  $\mu\text{m}$ . Es una bacteria Gram negativa de motilidad unipolar. Aeróbica, con un tipo de metabolismo con oxígeno como aceptor terminal de electrones. Tiene una elevada concentración de citocromooxidasa (es positivo a la oxidasa). Se la identifica, de modo preliminar, por su apariencia perlada y olor a uvas *in vitro*. La identificación clínica definitiva de *P. aeruginosa* frecuentemente incluye, la producción de pirocianina y fluoresceína, y su habilidad de crecer a 42°C. *Pseudomona aeruginosa* es lo suficientemente variable en su crecimiento y en sus necesidades energéticas como para emplear moléculas simples (como amoníaco y dióxido de carbono) como únicas fuentes de nitrógeno y carbono. Gracias a ello, no necesita medios enriquecidos para crecer y puede sobrevivir y multiplicarse en límites amplios de temperatura en casi cualquier ambiente, incluso aunque éste se caracterice por un contenido elevado de sal. Este patógeno oportunista de individuos inmunocomprometidos, infecta el tracto pulmonar, el urinario, tejidos, heridas, y es el causante de otras enfermedades en la sangre.

También, la *P. aeruginosa* es causante de dermatitis, originada por disminución del control de la calidad del agua de uso doméstico. Es el factor más común causante de altas fiebres en infecciones. Además, ha estado involucrado en foliculitis de tinas de agua caliente, en especial aquellas sin un control higiénico continuo.

➤ *Escherichia coli*.

Las bacterias de la especie *Escherichia coli* son células cilíndricas, de 1.1 – 1.5 x 2.0 – 6.0 µm, que pueden presentarse individuales o en pares. Gram negativas. Aeróbicas o aeróbicas facultativas, con tipo de metabolismo respiratorio y fermentativo. Produce ácido y gas de la mayoría de carbohidratos. Es Oxidasa negativa y fermenta la lactosa.

Usualmente, no produce ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S).

Las cepas de *E. coli* generalmente no son patógenas, sino indicadores de contaminación fecal. Su presencia en una muestra implica que otros microorganismos de origen fecal, incluyendo patógenos, pueden estar presentes en la misma. Sólo algunas cepas de *E.coli* son agentes etiológicos de infecciones gastrointestinales. Estas cepas patógenas entéricas se diferencian entre si y de las no patógenas por su biotipo, generalmente asociado a la presencia de plásmidos.

La contaminación fecal puede originarse en las materias primas utilizadas en la elaboración de un producto o por contaminación durante o posterior al proceso de elaboración. El número de bacterias generalmente depende del tipo de producto y proceso y determina el procedimiento que se realizará para aislar bacterias que pertenezcan a la especie *E. coli*.

En muestras de origen natural se podría esperar un número más alto de estas bacterias. En ese caso no se realiza la etapa de enriquecimiento sino que directamente se cuenta el número de estas bacterias empleando un método de recuento de bacterias viables en un medio selectivo para *E.coli*.

➤ *Candida spp.*

Las especies de *Candida* crecen como células de levadura típica de 4 a 6  $\mu\text{m}$ , redondas u ovaladas, con gemación en la mayoría de las condiciones y en casi todas las temperaturas.

La identificación de las especies de *Candida* se basa en una combinación de características bioquímicas, enzimáticas y morfológicas, como la asimilación de carbohidratos, fermentación y la capacidad para producir hifas, tubos germinales y clamidoconidios. Se presta mucha atención a la diferenciación de *Candida albicans* de otras especies porque es la causa más frecuente de enfermedad.

La mayoría de las especies de *Candida* crece con rapidez en agar de Sabouraud y en medios bacteriológicos enriquecidos como el agar-sangre. En este último medio se producen colonias suaves, blancas, parecidas a las de estafilococos después de la incubación por una noche. El principal procedimiento de identificación supone la diferenciación presuntiva de *C. albicans* de las de 150 otras especies con la prueba de tubo germinal. *Candida spp.* Forma parte de la flora de la piel, las mucosas, el tracto gastrointestinal y el aparato genitourinario del ser humano. También se han aislado en animales, plantas, objetos inanimados y medio ambiente. *C. albicans* se encuentra con menor frecuencia que otras especies en muestras provenientes del medio ambiente, por lo que algunos autores creen que es un saprofito específico de animales y personas.

La mayoría de las infecciones por *Candida spp.* Son de origen endógeno, es decir, que la infección suele estar causada por levaduras pertenecientes a la flora autóctona del paciente.

En otras ocasiones tienen una causa exógena, como la colonización de productos cosméticos o no, por cepas medioambientales. En la piel la enfermedad más común que se produce es la candidiasis.

## **CAPITULO III: METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION**

### Diseño de Investigación

#### 3.1 Tipo de Investigación

- ✓ Descriptiva: por que buscan especificar o identificar las propiedades importantes del sujeto de estudio o producto a estudiar, o cualquier otro fenómeno que se mida en cada uno de sus propiedades independientemente, para así describir lo que se desea investigar.
  
- ✓ Transversal: Se recolectan datos en un solo momento. Intentan analizar el fenómeno de un periodo de tiempo corto. Su propósito es describir variables y analizarlas en un momento dado.

##### 3.1.1 Método

- ✓ No experimental: porque no se influye en las variables para medir el efecto solo se describe el fenómeno.
  
- ✓ Deductiva: porque se interpreta la norma técnica como referencia y se deduce la aplicación de la misma en representación de los resultados.

#### 3.2 Población y Muestreo de la Investigación

##### 3.2.1 Población

Crema cosméticas comercializadas en la Galería Mesa redonda

### 3.2.2. Muestra

Se tomara como muestra 6 unidades de crema cosmética producto del cálculo de muestra.

#### **CALCULO DE TAMAÑO DE MUESTRA PARA UNA POBLACION FINITA.**

Siendo que nuestro tamaño de población es finita y conocida se utilizará la fórmula para tamaño de muestra siguiente:

$$n = \frac{Z^2 \cdot P \cdot Q \cdot N}{E^2(N-1) + Z^2 \cdot P \cdot Q}$$

Siendo:

Z: grado de confiabilidad: 95%

n: tamaño de muestra

p: prevalencia esperada positiva 50%

q: prevalencia esperada no esperada 50%

E: error que se prevé cometer 5%

N: tamaño de población 100

Reemplazando los datos para una población aproximada de 20 unidades se obtiene que se tomara una muestra de 6 unidades



### 3.3 Variables e indicadores

#### ❖ VARIABLES INDEPENDIENTES

Cremas cosméticas

#### ❖ INDICADORES

Parámetro de NTP- ISO 21150-2009 Detección de microorganismo patógeno *Escherichia coli*

#### ❖ VARIABLES DEPENDIENTES

Calidad microbiológica

#### ❖ INDICADORES

Identificación de presencia de *Escherichia coli* en la muestra

### 3.4 Técnicas e Instrumentos de recolección de datos

#### 3.4.1 Técnicas

Técnica de análisis microbiológico basada en la determinación de Ausencia o Presencia del microorganismo Bacilo Gram negativo (*Escherichia coli*)

Esta Norma Técnica Peruana establece directrices generales para la detección e identificación del microorganismo especificado *Escherichia coli* en productos cosméticos. Los microorganismos especificados en esta Norma Técnica Peruana podrían diferir, de país a país, de acuerdo con las regulaciones o prácticas nacionales. Para garantizar la seguridad y calidad del producto elaborado al consumidor final, se recomienda realizar un análisis de riesgo microbiológico apropiado para determinar los tipos de producto

cosmético a los que se aplica esta Norma Técnica Peruana. Los productos que se considera que presentan un riesgo microbiológico bajo incluyen a aquellos con baja actividad de agua, productos hidroalcohólicos, valores extremos de pH, etc.

El método descrito en esta Norma Técnica Peruana se basa en la detección de *Escherichia coli* en un medio líquido no selectivo (caldo de enriquecimiento), seguida por el aislamiento en un medio agar selectivo. Otros métodos pueden ser apropiados dependiendo del nivel de detección requerido.

#### 3.4.2 Instrumentos

Formato de resultado

#### 3.5 Diluyentes y medios de cultivos

Usar las instrucciones generales presentadas en la Norma ISO 21148. Cuando se menciona agua en este documento, usar agua destilada o agua purificada, como se especifica en la Norma ISO 21148.

El caldo de enriquecimiento se usa para dispersar la muestra e incrementar la población microbiana inicial. Este puede contener neutralizantes si el espécimen a ser analizado tiene propiedades antimicrobianas. El siguiente caldo de enriquecimiento es adecuado para verificar la presencia de *Escherichia Coli* según esta Norma Técnica Peruana, siempre que sea validada.

Otros diluyentes y medios de cultivo pueden usarse si se puede demostrar que son adecuados para su uso.

### 3.5.1 Diluyente para la suspensión bacteriana (solución de cloruro de sodio triptona)

El diluyente se usa para la preparación de suspensión bacteriana usada para el procedimiento de validación.

#### ❖ Composición

- Tryptona, digerido pancreático de caseína 1g.
- Cloruro de sodio 8.5 g.
- Agua 1000ml.

#### ❖ Preparación

Disolver los compuestos en agua mezclándolos mientras se calientan. Distribuir en recipientes adecuados. Esterilizar en la autoclave a 212°C, durante 15 minutos.

Después de la esterilización y enfriamiento, el pH será equivalente a 7,0 +- 0,2 cuando se mida a temperatura ambiente.

### 3.6 Medio de cultivo

El medio de cultivo puede prepararse usando las descripciones proporcionadas abajo o del medio de cultivo deshidratado, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Deben seguirse las instrucciones suministradas por el proveedor del medio.

NOTA: Los medios listos para usar, se pueden usar cuando su composición y/o rendimiento del crecimiento sean comparables a aquellas fórmulas aquí proporcionadas.

### 3.6.1 Medio agar digerido de caseína y soja (SCDA) o agar soja tripticasa (TSA)

#### ❖ Composición

- Digerido pancreático de caseína 15,0 g.
- Digerido papaico de harina de soja 5,0 g.
- Cloruro de sodio 5,0 g.
- Agar 15,0 g.
- Agua 1000 ml.

#### ❖ Preparación

Disolver los compuestos o el medio total deshidratado en el agua mezclándolos mientras se calientan. Distribuir el medio en recipientes adecuados. Esterilizar en la autoclave a 121°C, durante 15 minutos.

Después de la esterilización y enfriamiento, el pH será equivalente a 7,3 +- 0,2 cuando se mida a temperatura ambiente.

### 3.6.2 Caldo de enriquecimiento

#### A. Caldo Eugon LT 100

- Este medio contiene ingredientes

Que neutralizan las sustancias inhibitorias presentes en la muestra: lecitina y polisorbato 80

- Agentes dispersantes: octoxinol 9.

#### ❖ Composición

- Digerido pancreático de caseína 15,0 g.
- Digerido papaico de soja 5,0 g.
- L cistina 0,7 g.

• Cloruro de sodio	4,0 g.
• Sulfito de sodio	0,2 g.
• Glucosa	5,5 g.
• Lecitina de huevo	1,0 g.
• Polisorbato 80	5,0 g.
• Oxtocinol	1,0 g.
• Agua	1000ml.

#### ❖ Preparación

Disolver los compuestos, polisorbato 80, octoxinol 9 y lecitina de huevo, sucesivamente, en agua hervida hasta su completa dilución. Disolver los otros compuestos mezclándolos mientras se calientan.

Distribuir el medio en recipientes adecuados. Esterilizar en la autoclave a 121° C, durante 15 minutos. Después de la esterilización y enfriamiento, el pH será equivalente a 7,0 +- 0,2 cuando se mida a temperatura ambiente.

### 3.6.3 Medio agar selectivo para aislamiento de *Escherichia coli*

#### A. Agar MacConkey

##### ❖ Composición

• Digerido pancreático de gelatina	17,0 g.
• Digerido pancreático de caseína	1,5, g.
• Digerido péptico de tejido animal	1,5 g.
• Lactosa	10,0 g.
• Mezcla de sales biliares	1,5 g.

- Cloruro de sodio 5,0 g.
- Agar 13,5 g.
- Rojo neutro 30,0 mg.
- Violeta cristal 1,0 mg.
- Agua 1000 ml.

❖ Preparación

Disolver todos los compuestos sólidos en el agua y hervir durante 1 min. Para llevar a cabo la solución.

Distribuir en recipientes adecuados y esterilizar a 121°C, durante 15 minutos.

El pH, después de la esterilización y enfriamiento, será equivalente a  $7,0 \pm 0,2$  cuando se mida a temperatura ambiente.

### 3.6.4 Medio agar selectivo para la confirmación de *Escherichia Coli*

#### A. Medio agar levine con eosina –azul de metileno

❖ Composición

- Digerido pancreático de gelatina 10,0 g.
- Fosfato dibásico de potasio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 2,0 G.
- Agar 15,0 g.
- Lactosa 10,0 g.
- Eosina Y 400 MG.
- Azul de metileno 65 mg.
- Agua 1000 ml

### ❖ Preparación

Disolver el digerido pancreático de gelatina, fosfato dibásico de potasio y el agar en el agua calentándolos y dejar enfriar, Justo antes, licuar la solución agar gelatinizada, añadir los ingredientes restantes, como soluciones, en las siguientes cantidades y mezclar; para cada 100 ml de la solución agar licuada.

- 5 ml. Del 20 % de solución lactosa,
- 2 ml del 2 % de solución eosina, y
- 2 ml 0,033 % de solución metileno azul.

El medio terminado puede no ser claro.

Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar a 121 °C durante 15 minutos.

El pH, después de la esterilización y enfriamiento, será equivalente a  $7,1 \pm 0,0$  cuando se mida a temperatura ambiente.

### 3.7 Equipo y material de vidrio

Usar el equipo de laboratorio, aparatos y cristalería descritos en la Norma ISO 21148.

### 3.8 Microorganismo de ensayo

Para la validación de las condiciones de prueba, usar la siguiente cepa representativa:

*Escherichia coli* ATCC

(Cepa equivalente: CIP o NCIMB o NBRC o KCTC u otra cepa de colección nacional equivalente).

EL cultivo debe reconstituirse de acuerdo con los procedimientos suministrados por el proveedor de cepa en referencia.

### 3.9 Manipulación de productos cosméticos y muestras de laboratorio

Si fuera necesario, almacenar los productos, a ser analizados, a temperatura ambiente.

No incubar, refrigerar o congelar productos y muestras antes o después del análisis.

Realizar el muestreo de productos cosméticos de acuerdo con la Norma ISO 21148.

Analizar las muestras, de acuerdo con la Norma ISO 21148 y con el procedimiento del capítulo 3.9.

### 3.10 Procedimiento

#### A. Recomendaciones generales

Usar material esterilizado, equipo y técnicas asépticas para preparar la muestra, suspensión inicial y diluciones. En el caso de la preparación de la suspensión inicial en un agente solubilizante adecuado, el tiempo que transcurre entre el término de la preparación y el momento en el que el inóculo entra en contacto con el caldo de enriquecimiento, no excederá los 45 minutos, a menos, que se mencione específicamente en los documentos o protocolos establecidos.



## B. Preparación de la suspensión inicial en el caldo de enriquecimiento

El enriquecimiento se prepara de una muestra, como mínimo, de 1 g. o 1 ml. del producto bien mezclado bajo que se disemina, como mínimo, en 9 ml. de caldo de enriquecimiento.

Anotar, S, el peso exacto o volumen de la muestra.

El método será verificado para asegurar que la composición (neutralizador eventualmente añadido) y el volumen del caldo funcionen satisfactoriamente.

NOTA: En algunos casos, y cuando es posible, la filtración del producto cosmético a través de una membrana que después se sumerge en el caldo de enriquecimiento, facilita la neutralización de las propiedades antimicrobianas del producto.

### a) Productos inmiscibles en agua

Transferir la muestra, S, del producto a un recipiente adecuado que contenga un volumen apropiado de caldo.

### b) Productos inmiscibles en agua

Transferir la muestra, S, del producto a un recipiente adecuado que contenga una cantidad apropiada de agente solubilizante (por ej. Polisorbato 80).

Diseminar la muestra dentro del agente solubilizante y añadir un volumen apropiado de caldo.

### C. Productos filtrables

Usar un filtro de membrana que tenga un tamaño de poro nominal de no más de 0,45  $\mu\text{m}$ .

Transferir la muestra, S, a la membrana en un equipo de filtración. Filtrar, inmediatamente, y lavar la membrana usando volúmenes definidos de agua y/o diluyente

Transferir y sumergir la membrana en un tubo o matraz de tamaño adecuado que contenga un volumen apropiado de caldo.

### 3.11 Incubación del caldo de enriquecimiento inoculado

Inocular la suspensión inicial preparada en caldo (véase el apartado 9.2) a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , como mínimo, durante 20 h. (como máximo, 72 h.).

### 3.12 Detección e identificación de *Escherichia Coli*

#### A. Aislamiento

Usando un asa de siembra esterilizado, inocular una alícuota del caldo de enriquecimiento incubado sobre la superficie del medio agar MacConkey para obtener colonias aisladas.

Invertir la placa Petri y luego incubar a  $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  como mínimo, durante 24 h (como máximo, 48 h.).

Intentar encontrar colonias características (véase tabla 6).

Tabla Nº 6- Características morfológicas de *Escherichia Coli* en medio agar MacConkey

Medio selectivo	Morfología colonial característica de <i>Escherichia coli</i>
Medio agar MacConkey	Rojo ladrillo puede tener zonas circundante de bilis precipitada

B. Identificación de *Escherichia coli*

Continuar con las siguientes pruebas, para las colonias sospechosas aisladas en el medio agar MacConkey. La presencia de *Escherichia coli* puede confirmarse a través de otras pruebas bioquímicas y de cultivo adecuadas.

a) Tinción de gram

Realizar la prueba descrita en la Norma ISO 21148. Intentar encontrar bacilos Gram negativo (bacilos).

b) Cultivos en medio agar levine con eosina –azul de metileno

Inocular la superficie del medio agar levine con eosina – azul de metileno con colonias aisladas sospechosas que crecieron en el medio agar MacConkey, de manera que las colonias se puedan desarrollar. Invertir la placa Petri y luego incubar a 32,5°C ±2,5 °C como mínimo durante 24 h. (máximo 48 h).

Intentar encontrar colonias características como se especifica en la tabla 7

Tabla N° 7- Características morfológicas de *Escherichia coli* en medio agar de metileno – levine eosina

Medio selectivo	Morfología colonial características de <i>Escherichia coli</i>
Medio agar azul de metileno levine eosina	Brillo metálico bajo la luz reflejada y una apariencia de azul oscuro bajo luz transmitida

### 3.13 Expresión de resultado (Detección de *Escherichia coli*)

Si la identificación de las colonias confirma la presencia de esta especie, expresar el resultado como:

“Presencia de *Escherichia coli* en la muestra, S.”

Si no se observa crecimiento después del enriquecimiento y/o si la identificación de las colonias no confirma la presencia de esta especie, expresar el resultado como:

“Ausencia de *Escherichia coli* en la muestra, S.”

## CAPÍTULO IV:

### PRESENTACIÓN, ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 Resultados

Tabla N° 8: Muestra N° 1 Determinación de *Escherichia coli*

Producto: muestra 1 : crema nutre y regenera la piel		
Ensayo: DETERMINACION DE <i>ESCHERICHIA COLI</i>		
PATOGENO	ESPECIFICACION	RESULTADO
<i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1 gr	Ausente en 1 gr

Tabla N° 9: Muestra N° 2 Determinación de *Escherichia coli*

Producto: muestra 2: crema atenúa manchas y cicatrices		
Ensayo: DETERMINACION DE <i>ESCHERICHIA COLI</i>		
PATOGENO	ESPECIFICACION	RESULTADO
<i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1 gr	Ausente en 1 gr

Se evaluó 3 muestras de cada una equivalente a 15 gr de producto a analizar

Tabla N° 10  
 CANTIDAD SUFICIENTE REQUERIDA POR LA NTP PARA EL  
 ANALISIS

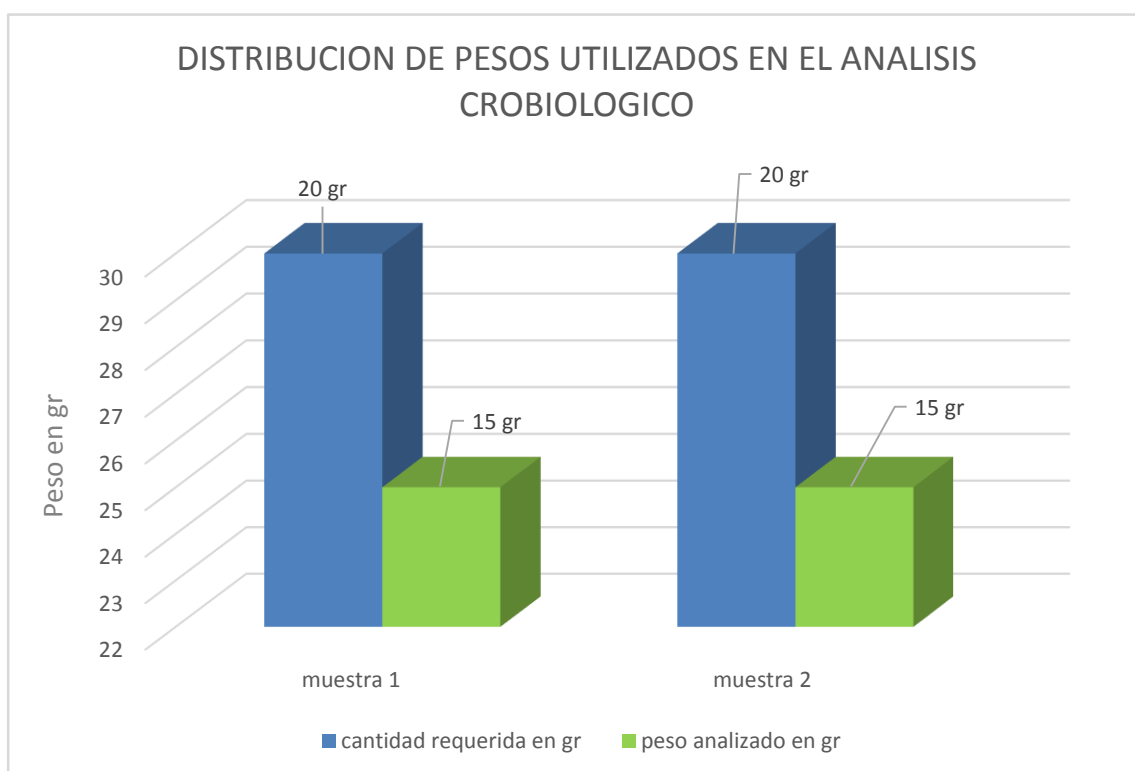
MUESTRA	CANTIDAD SUFICIENTE
CREMA “REGENERA LA PIEL”	15 gramos
CREMA “ATENUA LAS MANCHAS”	15 gramos

FUENTE: elaboración propia

GRÁFICO N° 01

DISTRIBUCION DE PESOS UTILIZADOS EN EL ANALISIS

MICROBIOLOGICO



FUENTE: elaboración propia

En el Gráfico N° 1 se establece que se adquirió cantidad suficiente de crema equivalente a 3 potes de crema de 20 gr para que finalmente según la aplicación de la técnica de análisis se requiere 15 gramos para su análisis, condición que se cumplió en el presente estudio.

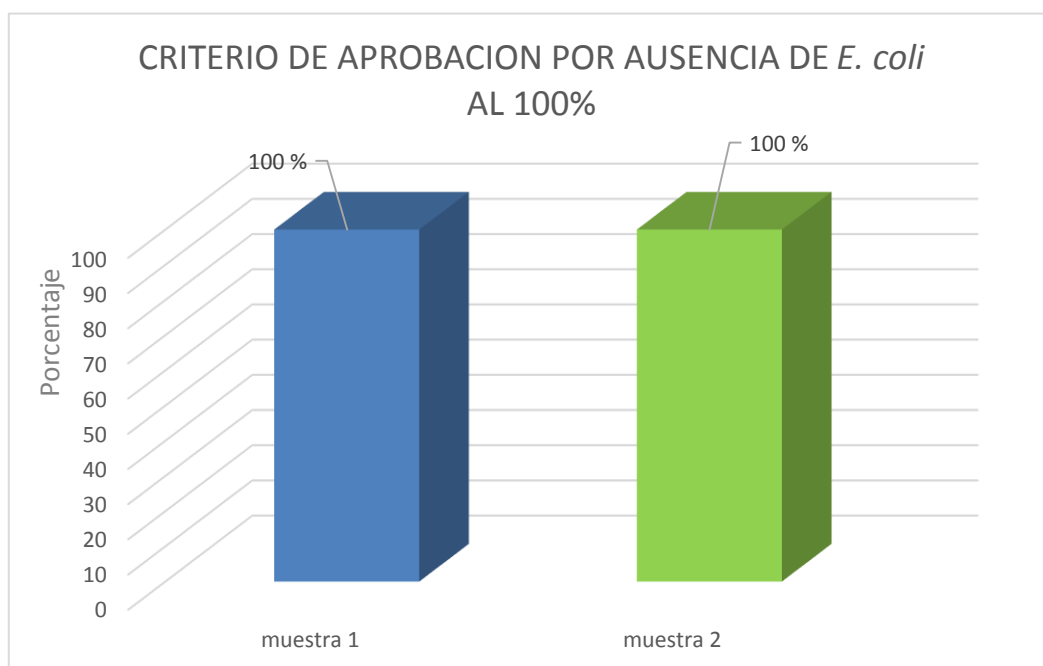
TABLA N° 11

CRITERIO DE APROBACION Y RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ANALISIS MICROBIOLOGICO DE LAS MUESTRAS SELECCIONADAS

Criterio	muestra 1	muestra 2
Ausencia de <i>E. coli</i>	Aprobado	Aprobado

GRÁFICO N° 2:

AUSENCIA DE *ESCHERICHIA COLI* EN LAS MUESTRAS SELECCIONADAS PARA ANÁLISIS



Fuente: elaboración propia

En el Gráfico N° 2 se establece que según los resultados obtenidos por análisis microbiológico indicado en la NTP para la identificación de *Escherichia coli* se encuentra que ambas muestras declaran ausencia total en el 100 % de las muestras.

## DISCUSION

Los resultados obtenidos por María De Lourdes Aceituno Martínez, Guatemala, 2006 establecieron la calidad microbiológica de las sombras de ojos tipo polvo compacto, al determinarse y cuantificarse la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, recuento heterotrófico en placa y recuento de mohos y levaduras. En todos los lotes analizados se demostró la presencia de *Staphylococcus saprofiticus* como contaminante; de igual manera se encontró un número elevado en su Recuento Heterotrófico en Placa, indicador de falla en las Buenas Prácticas de Manufactura. Mientras que en el presente trabajo de investigación los resultados arrojaron AUSENCIA TOTAL de patógeno. *Escherichia coli*

Por otro lado la investigadora Ligia María Guerra Bone y Col. En su investigación, Evaluación de la calidad microbiológica de cosméticos para bebés elaborados por la industria guatemalteca. Guatemala 2006. Describe la importancia del control de calidad microbiológica en este tipo de cosméticos dirigidos a infantes dando énfasis en que deben ser revisados con mucho cuidado, ya que los efectos pueden ser más nocivos para ellos que para cualquier otra población. La piel de los bebés es mucho más delgada que la de los adultos, teniendo menos estrato corneo y menos vellos. El estrato corneo es delgado porque las estructuras base se encuentran hasta ahora en fase de desarrollo. Esta piel es mucho más susceptible a las irritaciones. En este trabajo se deciden probar muestras de diferentes laboratorios que producen cosméticos para bebés, evaluando si cumplen con lo que prometen y con las normas estatales de sanidad y toxicología, asegurando que los productos utilizados y vendidos libremente sí son seguros. Los resultados y conclusiones más importantes



encontradas en este documento fueron las siguientes: Los productos analizados en el estudio se encontraron libres de agentes patógenos y cumplen con los parámetros de calidad microbiológica. Los resultados obtenidos en este estudio se encuentran validados por la elaboración de controles positivos, los cuales permitieron determinar si los procedimientos analíticos, los medios de cultivo y las pruebas bioquímicas permitían la recuperación de microorganismos presentes en las muestras y si su identificación era correcta. La única muestra que presentó crecimiento bacteriano fue sometida a un análisis posterior con el objetivo de identificar a la bacteria presente y para descartar que se tratase de *B. anthracis* o *B. cereus*, los cuales pueden ocasionar daños a la piel del consumidor, sobre todo tratándose de bebés cuya piel es mucho más sensible a los agentes bacterianos patógenos; sin embargo, los resultados de las pruebas realizadas no son compatibles con ninguna de las dos especies mencionadas. Debido a la importante función que cumplen los preservantes en los productos cosméticos analizados se puede determinar que dichos compuestos se encuentran en la concentración necesaria para lograr la inhibición del crecimiento bacteriano en el producto terminado y puesto a la venta, ya que en ninguna de las muestras se observó crecimiento bacteriano. Durante el procedimiento analítico llevado a cabo en este estudio solamente se pudo evaluar la calidad microbiológica de las muestras, ignorándose si las mismas cumplen con los requisitos de calidad fisicoquímica y toxicológica exigidos por el Laboratorio Nacional de Salud y con las normas internacionales referentes a estos dos aspectos

Según la investigadora Andrea, Lizcano Ramón y Col. Bogota 2008 en su investigación Evaluación de la Actividad Microbiana de los extractos etanólicos

y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos describe que el extracto de *Passiflora manicata* fue el extracto que presentó mayor efecto frente a microorganismos como *E. coli*. En la presente investigación se puso en relieve la patogenicidad de la bacteria *Escherichia coli* la misma que se intentó identificar como contaminante en muestras de cosmético en presentación de crema resultando en ausencia total del patógeno en la muestra analizada. Cabe resaltar que tanto en la presente investigación como en la referencia de la investigadora Andrea, Lizcano Ramón toman como patrón referencial de contaminación a esta bacteria en particular dado su importancia clínica.

## CONCLUSIONES

1. La crema cosmética de Concha de Nácar comercializada en Galería Mesa Redonda en la que se identificó la presencia de microorganismo patógeno *Escherichia coli* es declarada AUSENCIA TOTAL.
2. Las cremas cosméticas comercializados en la galería Mesa Redonda cumplen con los requisitos establecidos por la Norma Técnica Peruana. NTP-ISO N° 21150-2009 declarándose aptas para el consumo humano.
3. Las cremas cosméticas comercializados en la galería Mesa Redonda que fueron sometidas a ensayos microbiológicos para determinación de patógenos, solo pueden afirmar que existe ausencia total para *Escherichia coli* sin embargo no se puede afirmar que no poseen concentraciones de bacterias patógenas y no patógenas, distintas de la analizada, por fuera del límite microbiano que exige la norma sanitaria.
4. Las condiciones de almacenamiento de los productos cosméticos sometidos a análisis no cumplen con las exigencias de Buenas Prácticas de Almacenamiento exigidas por la Norma Sanitaria lo que proliferaría la contaminación microbiana.

## RECOMENDACIONES

1. Se recomienda ampliar el número de muestras para hacer más significativos los resultados a pesar de que los resultados evidenciaron ausencia total de microorganismo patógeno.
2. Se recomienda realizar el ensayo microbiológico de cuantificación de microorganismos aerobios mesófilos viables y determinar si la muestra cumple con la exigencia de la NTP respectiva.
3. Ampliar el análisis microbiológico a la identificación de otros microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, y *Candida albicans* requeridos en ausencia total por la NTP.
4. Dadas las evidencias encontradas durante el proceso de selección de la muestra se recomienda evaluar las condiciones de almacenamiento de productos cosméticos y su influencia en la contaminación bacteriana.
5. Dada las evidencias encontradas en relación a la procedencia de los productos cosméticos importados y aun los de procedencia nacional con insumos importados se recomienda la identificación y cuantificación de insumos con categoría de tóxicos prohibidos de uso y aquellos tóxicos con limite en su uso, según lo descrito en los acuerdos de la Cámara Andina de Naciones en relación al uso de cosméticos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **SANTOS DE LA SEN, Antonio y Col.** Diseño docente para la realización de prácticas de control de la calidad microbiológica de productos cosméticos y de dermofarmacia. España.2009
2. **LIZCANO RAMÓN,** Andrea y Col. Evaluación de la Actividad Microbiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales Valeriana pilosa, Hesperomelesferruginea, Myrcianthesrhopaloides y Passiflora manicata frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. Bogota 2008
3. **ACEITUNO MARTÍNEZ** María De Lourdes. Evaluación de la calidad microbiológica en sombra de ojos, tipo polvo compacto de un laboratorio de producción nacional, según método de referencia Pharmacopea USP 2005. Guatemala, 2006
4. **GUERRA BONE Ligia María y Col.** En su investigación, Evaluación de la calidad microbiológica de cosméticos para bebés elaborados por la industria guatemalteca. Guatemala 2006
5. **PIEL: LILIANA CARDENAS VALLEJO Y LAURA MILENA ROJAS GOMEZ,** Elaboración de crema antiestrias a partir de productos naturales a escala de laboratorio. Medellín 2007
6. **EMULSIONES: JIMMY W. RODRÍGUEZ L.,** Formulación de una emulsión submicrométrica cosmética para el tratamiento de la celulitis, Venezuela 2004
7. **COSMETICOS: LIGIA MARÍA GUERRA BONE,** Evaluación de la calidad microbiológica de cosméticos para bebés elaborados por la industria guatemalteca, Guatemala 2003.
8. **CREMA: RAQUEL GUDIÑO CANDO,** Control microbiológico de cremas faciales, a base de productos naturales, comercializadas en centros naturistas de la ciudad de quito. Quito 2013

9. ***E.coli***: **PLINIO LÁZARO FALEIRO NAVES**, Formación de Biopelículas por "*Escherichia coli*" y su correlación con factores de virulencia: prevención y actividad de antimicrobianos frente a organismos planctónicos y asociados a Biopelículas. Madrid, 2010

## ANEXOS Nº 1

Fotografía Nº1: Laboratorio de la universidad Alas Peruanas, realizando el análisis microbiológico en agar con crema cosmética



## ANEXO N° 2

Fotografía N° 2 Protocolo de análisis N° 00106-CPF 2015, muestra concha de nácar (nutre y regenera la piel)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
CENPROFARMA  
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO



### PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00106-CPF-2015

ORDEN DE ANÁLISIS : 002865/2015  
SOLICITADO POR : GRETEL ALEJANDRINA CALANCHE YUCRA  
DIRECCIÓN : Jr. Aires 1143 Urb. Mercurio Los Olivos  
MUESTRA : CREMA CONCHA DE NACAR (NUTRE Y REGENERA LA PIEL)  
NÚMERO DE LOTE : 1091974  
CANTIDAD : Pote de Plástico Aprox. 20 g  
FECHA DE RECEPCIÓN : 18 de Febrero del 2015  
FECHA DE FABRICACIÓN : S/F  
FECHA DE VENCIMIENTO : 09 de Setiembre del 2017

DETERMINACIÓN DE ESCHERICHIA COLI		
PATÓGENO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
<i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1 g	Ausente en 1 g

El producto *CREMA CONCHA DE NACAR (NUTRE Y REGENERA LA PIEL)* Lote 1091974 cumple con las especificaciones dispuestos por la Norma Técnica Peruana "NTP – ISO21150 2009" para la detección de *Escherichia Coli*.

Lima, 04 de Marzo del 2015

  
.....  
Mg. María Elena Salazar Salvatierra  
Directora del Centro de Control Analítico

FCCA-009 R1

**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú - Telfs.: (511) 6197000 anexo 4814 / 3284737 anexo 14 Fax (511) 3287398 - Ap. Postal 1760 - Lima 1  
E-mail: cicotox@unmsm.edu.pe <http://www.unmsm.edu.pe/farmacia>



### ANEXO N° 3

Fotografía N° 3 Protocolo de análisis N° 00106-CPF 2015, muestra concha de nácar (nutre y regenera la piel)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
CENPROFARMA  
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO




### PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00107-CPF-2015

ORDEN DE ANÁLISIS : 002866/2015  
SOLICITADO POR : GRETTEL ALEJANDRINA CALANCHE YUCRA  
DIRECCIÓN : Jr. Aires 1143 Urb. Mercurio Los Olivos  
MUESTRA : CREMA CONCHA DE NACAR (ATENUA MANCHAS Y CICATRICES)  
NÚMERO DE LOTE : S/L  
CANTIDAD : Pote de Plástico Aprox. 20 g  
FECHA DE RECEPCIÓN : 18 de Febrero del 2015  
FECHA DE FABRICACIÓN : S/F  
FECHA DE VENCIMIENTO : S/F

DETERMINACIÓN DE ESCHERICHIA COLI		
PATÓGENO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
<i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1 g	Ausente en 1 g

El producto *CREMA CONCHA DE NACAR (ATENUA MANCHAS Y CICATRICES)* cumple con las especificaciones dispuestos por la Norma Técnica Peruana "NTP – ISO21150 2009" para la detección de *Escherichia Coli*.

Lima, 04 de Marzo del 2015

  
.....  
Mg. María Elena Salazar Salvatierra  
Directora del Centro de Control Analítico

FCCA-009 R.1

*"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"*

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú - Telfs.: (511) 6197000 anexo 4814 / 3284737 anexo 14 Fax (511) 3287398 - Ap. Postal 1760 - Lima 1  
E-mail: cicotox@unmsm.edu.pe <http://www.unmsm.edu.pe/farmacia>

## ANEXO Nº 4

Matriz de consistencia

### MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título: DETERMINACION DE CALIDAD MICRBIOLÓGICA EN CREMA COSMÉTICA

Presentado por: CALANCHE YUCRA, Gretel Alejandrina.

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	Diseño	Población:
¿Cómo se determinaría la calidad microbiológica de cremas cosméticas de Concha de Nacar por ausencia de patógenos comercializadas en la Galería Mesa Redonda Mayo - Agosto de 2014?	<b>OBJETIVO GENERAL:</b> Determinar la calidad microbiológica de crema cosmética de Concha de Nacar por ausencia de patógenos según la Norma Técnica Peruana	<b>HIPOTESIS GENERAL:</b> La cremas cosmética cumpliría con los requisitos de calidad microbiológica establecidos por la Norma Técnica Peruana	<b>V. Independiente (Y):</b> <b>V1</b> crema cosmética. <b>Indicadores:</b> <b>I1</b> parámetro de NT P- ISO 21150-2009 Detección de microorganismo patógeno <i>Escherichia Coli</i>	<b>Tipo de la investigación:</b> Descriptiva. Transversal.  <b>Método de la investigación:</b> No experimental Deductiva	<b>Población:</b> Cremas cosméticas  <b>Muestra:</b> Se tomara como muestra 6 unidades de crema cosmética producto del cálculo de muestra
	<b>OBJETIVOS SECUNDARIOS</b>	<b>HIPÓTESIS SECUNDARIAS</b>			
	Determinar la presencia de microorganismo patógeno <i>Escherichia Coli</i> en crema cosmética de Concha de Nacar comercializada en galería Meza Redonda en el periodo Mayo – Agosto 2014  Determinar mediante análisis microbiológico si las cremas cosméticas comercializados en la galería Mesa Redonda cumplen con los requisitos establecidos por la Norma Técnica Peruana. NTP-ISO N° 21150-2009	El análisis microbiológico de crema cosmética demostraría presencia de microorganismo patógeno <i>Escherichia Coli</i> .  La crema cosmética cumpliría con los requisitos de ausencia de microorganismo patógeno <i>Escherichia Coli</i> establecidos por la Norma Técnica Peruana NTP-ISO N° 21150-2009	<b>V. Dependiente (X):</b> Calidad microbiológica <b>Indicadores:</b> <b>I1</b> Identificación de presencia de <i>Escherichia Coli</i> en la muestra		

**ANEXO N° 5**

**Norma técnica peruana NTP-ISO 21150:2009 cosméticos. Microbiología.  
Detección de *Escherichia coli***