

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN SOMBRA DE OJOS,
TIPO POLVO COMPACTO DE UN LABORATORIO DE PRODUCCIÓN
NACIONAL, SEGÚN MÉTODO DE REFERENCIA
PHARMACOEPA USP 2005

Informe de Tesis

Presentado por:

María De Lourdes Aceituno Martínez

Para optar al título de

Químico Farmacéutico

Guatemala, Noviembre de 2006

ÍNDICE

1.	Resumen	3
2.	Introducción	5
3.	Antecedentes	
	3.1 Generalidades de los cosméticos:	
	3.1.1 Definición de cosméticos	7
	3.1.2 Componentes de los cosméticos	7
	3.1.3 Estabilidad de los cosméticos	8
	3.1.4 Control de calidad	9
	3.1.5 Normativa guatemalteca	9
	3.1.6 Etiqueta de un cosmético	11
	3.1.7 Definición de sombra de ojos	12
	3.1.8 Componentes de las sombras de ojos	12
	2.1.9 Estabilidad y cuidados	12
	3.1.10 Operaciones de control de calidad	13
	3.1.11 Seguridad de los cosméticos	15
	3.1.12 Autoridad y cumplimiento de la ley	16
	3.1.13 Evaluación microbiológica	17
	3.1.14 Conteo Aeróbico en Placa	18
	3.1.15 Conteo en Placa de Hongos, Mohos y Levaduras	18
	3.2 Trabajos de investigación previos	19
4.	Justificación	21
5.	Objetivos	22
6.	Materiales y Métodos	23
7.	Resultados	30
8.	Discusión de Resultados	36
9.	Conclusiones	38
10.	Recomendaciones	39
11.	Referencias	40
12.	Anexos	

1. RESUMEN

Las sombras de ojos tipo polvo compacto presentan en algunas ocasiones contaminación microbiana, lo cual se logra poner en evidencia al realizarse el análisis microbiológico de las mismas. Esto es debido a que durante el proceso de su manufactura son elaborados sin tener en cuenta las buenas prácticas de manufactura y son distribuidas sin haberseles sometido a análisis rigurosos, en los cuales se pueda determinar la ausencia o presencia de contaminación microbiana, como sucede en el caso de los cosméticos analizados; los cuales fueron manufacturadas en Guatemala, razón por la cual es necesario realizar investigaciones donde se evidencie la calidad de dichos productos.

La presente investigación se llevó a cabo con el fin de establecer 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, ya que al no cumplir con los requerimientos establecidos puede provocar desde una infección leve hasta la pérdida de la visión. En casos leves, el suspender el uso del cosmético elimina la infección presente, mientras en casos graves es necesario la intervención médica para contrarrestar la misma.

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

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 a los permitido según lo establecido por la Pharmacopea USP 2005, así como también se logró evidenciar la presencia de *S. Saprophyticus* como contaminante.

Por lo anterior mencionado se considera poco seguro el uso de este cosmético para los consumidores, esto hace necesario contar con métodos de manufactura exigentes los cuales aseguren el mayor porcentaje la calidad del producto final y la inocuidad para los usuarios.

Además de la implementación de sistemas como gestión de la calidad donde no sólo se asegure el fiel cumplimiento de las BPM, sino además con la modificación de sistemas como HACCP (Hazard Analisis and Critical Control Points)* en la industria cosmética, lo cual puede prevenir el aparecimiento de estos problemas que ponen el peligro la salud del consumidor.

*Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control

2. INTRODUCCIÓN

La ley Federal de Alimentos, Drogas y Cosméticos (FD&C Act) de Estados Unidos de América define los cosméticos como artículos para ser aplicados en el cuerpo humano para limpiar, embellecer, aumentar el atractivo físico o alterar la apariencia sin afectar la estructura del cuerpo o sus funciones.

Entre las cualidades de un cosmético se encuentran respetar la integridad de la piel, mantener un pH fisiológico de la piel o permitir un rápido retorno a la normalidad, ser bien tolerado y de una perfecta inocuidad, tener una textura agradable y ser fácil de utilizar.

Los productos que son cosméticos y a la vez se usan para tratar o prevenir una enfermedad, o que de alguna manera afectan la estructura o las funciones del cuerpo humano, son considerados como fármacos y deben cumplir, no solamente con las estipulaciones de los cosméticos, sino también con las de las drogas.

La contaminación microbiológica de los cosméticos normalmente proviene de fuentes como la materia prima, medio ambiente, equipo de fabricación, material de envase primario y personal que manipula el producto. Siendo la materia prima la fuente más común y de mayor importancia. El medio ambiente y el equipo influyen en gran medida, pues dentro de la planta de producción de cosméticos deben guardarse la más estrictas medidas de higiene y sanitización.

Los microorganismos presentes en los cosméticos pueden provocar irritaciones o afecciones, especialmente si el producto entra en contacto con piel lesionada. Las reacciones adversas afectan no solo la piel, pues se han reportado casos de conjuntivitis u otras reacciones por la presencia de agentes bacterianos que se asocian con los cosméticos como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, por ejemplo.

En Guatemala no se cuenta con una normativa que regule los niveles permisibles de microorganismos en cosméticos, sin embargo, el Laboratorio Nacional de Salud trabaja con parámetros similares a los utilizados para análisis de productos farmacéuticos estériles.

En la presente investigación se comprobó que las sombras de ojos en polvo compacto, manufacturadas en Guatemala no cumplieron con las especificaciones de la FDA (Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos). Para lograr dicho objetivo las sombras se analizaron por medio de un conteo aeróbico en placa (CAP) y un conteo en placa de hongos, levaduras y mohos.

Los resultados obtenidos en la presente investigación dieron a conocer la calidad microbiológica con la que se fabrican cosméticos a nivel nacional, brindaron información sobre su calidad y a su vez si estos son seguros para ser utilizados por el consumidor. Esta información fue trasladada al laboratorio manufacturero de las sombras analizadas para que este mejore o mantenga la calidad en el producto.

3. ANTECEDENTES

3.1 GENERALIDADES DE LOS COSMÉTICOS:

3.1.1 DEFINICIÓN DE COSMÉTICOS:

Se considera un producto cosmético "toda sustancia o preparado destinado a ser puesto en contacto con las diversas partes superficiales del cuerpo humano (epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos) o con los dientes y las mucosas bucales, con el fin exclusivo o principal de limpiarlos, perfumarlos, modificar su aspecto, y/o corregir los olores corporales, y/o protegerlos o mantenerlos en buen estado". También se les puede denominar sustancias o preparaciones que se utilizan con el fin de modificar la apariencia de las personas por aplicaciones externas en la piel, uñas, etc. los cuales incluyen una acción no sistémica. (1-2)

3.1.2 COMPONENTES DE LOS COSMÉTICOS:

✚ **Excipientes:** Son sustancias en las cuales se disuelven los distintos componentes de un preparado. Un excipiente no ha de ser forzosamente vulnerable a los agentes externos, pero ha de contener siempre los mismos componentes, no manchar, no reaccionar con las sustancias que lleva en su composición, ni tener color ni olor desagradables.(2)

✚ **Sustancias activas:** Tienen una acción concreta, son sustancias de las que se espera determinados efectos. Estas sustancias pueden modificar la apariencia de la piel pero no deben influir ni en su estructura ni en su función. (2)

✚ **Sustancias correctoras:** Estas sustancias sirven para modificar determinados aspectos de los restantes componentes del cosmético como por ejemplo el olor, la consistencia o el color. Están vinculadas a la calidad del producto final. (2)

✚ **Sustancias conservadoras:** Tienen la finalidad de hacer el producto menos perecedero alargando así su fecha de caducidad,

aunque también es cierto que protegen al producto de la fermentación o de cualquier otro cambio que pueda producirse con el tiempo. (2)

✚ **Colorantes:** Todos los cosméticos comerciales contienen en mayor o menor cantidad colorantes. Su finalidad es hacer más llamativo el producto o asociar el color a determinadas finalidades como los fijadores capilares, las cremas faciales, etc. Las sustancias colorantes de origen animal o vegetal han dado paso en la actualidad a derivados orgánicos sintéticos procedentes del alquitrán (anilinas). (2)

✚ **Perfumes:** Se utilizan con el fin de conseguir que el cosmético sea más agradable. Los aceites esenciales puros son los mejores ya que a través de ellos se pueden perseguir sus propiedades terapéuticas. (2)

3.1.3 ESTABILIDAD DE LOS COSMÉTICOS:

Los recipientes y/o envases (en determinados casos) deben llevar consignadas, en caracteres indelebles, fácilmente legibles y visibles, el nombre o la razón social y la dirección o la sede social del fabricante o del responsable de la comercialización del producto cosmético, establecido dentro de la Comunidad, el contenido nominal en el momento del acondicionamiento del producto indicado en peso o en volumen, la fecha de caducidad anunciada por la mención "Utilícese preferentemente antes de fin de...", las precauciones especiales de empleo y el número de lote de fabricación o la referencia mediante la que se la pueda identificar. Para los productos cosméticos no preembalados (desde el 1 de enero de 1997) se decide que deberá figurar también en el recipiente o envase la función del producto y la lista de sus ingredientes. (3)

3.1.4 CONTROL DE CALIDAD:

Los principales aspectos considerados en la evaluación sanitaria de cosméticos de importación y de producción nacional. La evaluación de cosméticos por el Registro Sanitario se basa en el etiquetado del producto, los documentos técnicos suministrados por el productor y la corroboración de algunos indicadores sanitarios de interés particular

en casos necesarios. Se mencionan los análisis físico-químicos, microbiológicos, toxicológicos y biológicos más importantes. Se presentan las principales dificultades detectadas, entre las que se encuentran deficiencias en el etiquetado, información técnica de pobre calidad y valores que no cumplen con las normas sanitarias establecidas. (3-4)

La inocuidad y calidad de los cosméticos, artículos de higiene y limpieza del hogar (en lo adelante cosméticos) constituyen elementos de importancia para la salud de la población y el desarrollo económico y social. (5)

La inversión que un país haga en el fortalecimiento de sus sistemas de protección y control de los cosméticos redundará no solo en mayor ingreso de divisas por concepto de exportaciones de estos productos, sino también en una mejor protección de los consumidores y seguridad de su población. (5)

3.1.5 NORMATIVA GUATEMALTECA:

Guatemala cuenta con el Reglamento para el control sanitario de los medicamentos y productos afines, en el están contenidos los lineamientos básicos con los cuales deberán cumplir tanto el laboratorio como el producto cosméticos para posteriormente ser distribuidos.

A continuación se hará mención de la clasificación de los productos farmacéuticos y otros afines:

Título II: DE LOS PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y OTROS AFINES

Capítulo I: CLASIFICACIÓN

Artículo 9: PRODUCTOS AFINES

Son considerados productos afines objeto de control, los cosméticos, productos de higiene personal, higiene del hogar, fito y zooterapéuticos, materiales de curación y médico quirúrgicos, reactivos de laboratorio para uso diagnóstico y materiales, plaguicidas

de uso doméstico, plaguicidas utilizados en programas de salud, productos y equipo odontológico. (6)

Capítulo IV: DE LOS PRODUCTOS AFINES OBJETO DE CONTROL

Artículo 46: DE LA INSCRIPCIÓN DE LOS COSMÉTICOS, PRODUCTOS DE HIGIENE PERSONAL Y DEL HOGAR

Los cosméticos, productos de higiene personal y del hogar deben garantizar su seguridad mediante el uso de materias primas aceptadas en la literatura reconocida en el ámbito internacional. (6)

Su calidad deberá ceñirse a la declaración de la documentación presentada en la inscripción e información al consumidor y quedan sujetos al control de calidad y vigilancia de criterios de riesgo que establezca EL DEPARTAMENTO. (6)

El material de envase y empaque, debe contener información necesaria para su correcta identificación y uso, debe asegurar, así mismo, la calidad del producto durante su período de comercialización. (6)

En caso de productos cuya base fundamental se mantiene y el cambio consiste en pigmentos, colorantes y aromas, es necesario consignar los diferentes ingredientes en uso y se inscribirá como un solo producto. (6)

Título IV: ESTABLECIMIENTOS FARMACÉUTICOS Y OTROS AFINES

Capítulo Único: DISPOSICIONES GENERALES

Artículo 73: DE LOS ESTABLECIMIENTOS QUE SE DEDIQUEN A LA FABRICACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS.

Para obtener la autorización de laboratorio fabricante, el solicitante deberá cumplir con los siguientes requisitos:

Detallar las formas farmacéuticas que pretenda fabricar, así como la ubicación del laboratorio de fabricación y control. (6)

73.1) Cumplir con los requisitos de buenas prácticas de manufactura según el tipo de establecimiento. (6)

73.2) Presentación del estudio impacto ambiental aprobado por la Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA). (6)

73.3) Aprobar el formulario de la inspección con un mínimo de setenta (70) puntos. (6)

EL DEPARTAMENTO concederá la correspondiente autorización sólo después de comprobar que se cumplen los requisitos exigidos anteriormente. (6)

La autorización en el plazo que se determinará en los procedimientos respectivos. Dichos plazo quedará interrumpido si EL DEPARTAMENTO requiere el cumplimiento de requisitos complementarios para que se cumpla con los requisitos de buenas prácticas de manufactura. (6)

Artículo 74: BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA

Los titulares de autorización de laboratorio farmacéutico deben cumplir con las buenas prácticas de manufactura aprobadas por el Ministerio de Salud así como las buenas prácticas de laboratorio. Estas normas deben ser adaptadas, periódicamente al estado de la ciencia y la técnica y su control y vigilancia se hará usando el formulario respectivo.(6)

3.1.6 INFORMACIÓN DE LA ETIQUETA DE UN COSMÉTICO:

En los recipientes y embalajes de todo producto cosmético puesto en el mercado deberán figurar, con caracteres indelebles, fácilmente legibles y visibles, las menciones siguientes:

-  Denominación del producto
-  El nombre o razón social y la dirección o domicilio social del fabricante.
-  El contenido nominal, indicado en peso o en volumen.

- ✚ La fecha de caducidad mínima, mediante la mención "utilícese preferentemente antes de final de ..."
- ✚ Las precauciones particulares de empleo.
- ✚ El número de lote de fabricación.
País de origen, cuando se trate de productos fabricados fuera de la Unión Europea
- ✚ La función del producto.
- ✚ La lista de ingredientes por orden descendente de importancia.(7)

3.1.7 DEFINICIÓN SOMBRA DE OJOS:

Cosmético en forma de crema o polvo que se aplica en la parte superior del ojo (párpado) con el fin de embellecer. Hay diferentes preparados de sombras de ojos entre las cuales se tiene cremas anhidras de tipo fluidificante o emulsionado, emulsiones, barra suspensiones o dispersiones líquidas y por último polvos compactos. (7)

3.1.8 COMPONENTES DE SOMBRAS DE OJOS:

Las sombras de ojos compactas poseen dentro de su formulación bases oleosas (petrolato, lanolina), agua (solvente universal, pigmento (color de la sombra), agentes preservantes (propilenglicol, el cual actúa como inhibidor de crecimiento de hongos, solvente y humectante), agente pulidor (trietanolamina). (7)

3.1.9 ESTABILIDAD Y CUIDADOS:

Es importante destacar que cualquier producto cosmético aplicado cerca de la zona ocular es susceptible de migrar y entrar en contacto con la superficie córneo-conjuntival. Los productos para el maquillaje de los ojos deben respetar al máximo la fina epidermis de los párpados, así como la integridad de la película lagrimal y más concretamente, la capa lipídica de superficie que está en contacto directo con el medio externo. Es importante eliminar de la formulación todos aquellos elementos susceptibles de poseer un potencial alergizante supuesto o reconocido.(7)

Eliminar aquellas sustancias que pueden irritar la piel de los párpados o la córnea, por migración dentro del ojo (efecto mecánico), como la purpurina o ciertos nácares de gran tamaño y utilizar sólo nácares de tamaño inferior a 150 m y en pequeña cantidad (inferior al 20%). Utilizar pigmentos recubiertos, como los óxidos de hierro o el azul ultramar, para evitar este tipo de complicación. (7)

Verificar la no migración de los componentes utilizados, para reducirlos riesgos irritativos, así como la compatibilidad con las lentes de contacto y la perfecta tolerancia e inocuidad, por medio de tests clínicos en personas con sensibilidad ocular y/o usuarias de lentes de contacto. (7)

Una vez abiertos, los productos entran en contacto con el exterior y surge el riesgo de que se degraden, las dos causas principales para que un cosmético se estropee son la oxidación de alguno de sus componentes por contacto con el aire y el riesgo de una contaminación microbacteriana. (8)

Sin embargo, los cosméticos están protegidos de las contaminaciones accidentales gracias a los conservantes que evitan su degradación. Pueden ser de tres tipos: antioxidantes, que retrasan o impiden la alteración de sus componentes; bactericidas, que luchan contra la proliferación de las bacterias; y fungicidas, para evitar la aparición de hongos. Su estabilidad está asegurada como mínimo durante 36 meses desde el momento de su fabricación y antes de abrirlo. (8)

3.1.10 OPERACIONES DE CONTROL DE CALIDAD:

Por operaciones de control de calidad se entienden todas aquellas operaciones que se realizan durante la fabricación con miras al monitoreo del cumplimiento con la calidad. (9)

☀ Es responsabilidad del personal de laboratorio el control de los bienes que se reciben, tanto como el control de los productos terminados. (9)

☀ Es responsabilidad del personal de fabricación, el control en el proceso. (9)

☀ Tanto los laboratorios como el personal de fabricación, deben disponer de la siguiente información:

Especificaciones.

Procedimiento de muestreo.

Métodos de inspección y pruebas.

Límites de aceptación. (9-10)

☀ En lo que se refiere a la fabricación, se deben llevar a cabo controles como los siguientes:

Identificación (número de código interno, nombre comercial).

Número de lote y fecha. (9-10)

☀ Los resultados obtenidos se deben refrendar, emplear y registrar. Estos registros deben tener como mínimo la siguiente información:

Resultado de inspecciones, mediciones y chequeos, al igual que las observaciones de parte del personal que lleva a cabo las operaciones.

En el caso específico de aprobación, debe establecerse claramente la situación de rechazado, aprobado o pendiente.

Se puede utilizar cualquier tipo de sistema de registro, siempre y cuando los documentos puedan consultarse rápidamente, así como reproducirse y mantenerse en buenas condiciones. (9-10)

☀ Se deben guardar suficientes cantidades de muestras de cada lote usado, para permitir análisis completos; la misma condición

se aplica a cada lote de productos terminados, que deben mantenerse en su empaque. (11)

- ☀ Las muestras identificadas deben almacenarse en áreas de acceso restringido, diseñadas especialmente para tal fin. (11)
- ☀ Para lograr un efectivo control de calidad en la fabricación, una empresa debe, entre otras cosas, ser capaz de reclutar personal con el conocimiento, la experiencia, la competencia y la motivación necesarios. (11)
- ☀ Es primordial identificar las necesidades de entrenamiento de personal en calidad, a cualquier nivel de la jerarquía y diseñar un plan de entrenamiento. (11)
- ☀ Teniendo en cuenta la habilidad y la experiencia de una sección del personal, se deben diseñar e implementar cursos de entrenamiento adaptados a sus trabajos y responsabilidades. En consecuencia, por ejemplo, el entrenamiento completo es esencial para todo el personal clave y el personal de fabricación, en relación con los métodos y la capacidad requerida para llevar a cabo diferentes operaciones (por ejemplo, el pesado, la mezcla, mantenimiento, higiene industrial, fabricación, chequeos en línea, entre otros). (11)

3.1.11 LA SEGURIDAD DE LOS COSMÉTICOS:

Aunque el Acto Federal de Drogas, Alimentos y Cosméticos no exige a los fabricantes de cosméticos ni sus distribuidores prueba de la seguridad de sus productos, la FDA recomienda enfáticamente a los primeros, llevar a cabo pruebas toxicológicas y de otra índole, apropiadas para comprobar la seguridad de sus cosméticos. Si la seguridad de un cosmético no es adecuadamente comprobada, el producto será considerado como falsamente marcado y puede ser sujeto a medidas regulatorias, a menos que su rótulo exhiba la siguiente manifestación de

alarma: "Advertencia - La seguridad de este producto no ha sido determinada". (12)

Con la excepción de colorantes añadidos y unos pocos ingredientes prohibidos, los fabricantes de cosméticos pueden, bajo responsabilidad personal, usar esencialmente cualquier materia o sustancia cruda como ingrediente de un cosmético y lanzar el producto al mercado sin aprobación alguna. La ley exige que los colorantes añadidos a alimentos, drogas y cosméticos deban ser verificados y aprobados por la FDA en cuanto a seguridad, según sea su uso en el futuro. Un cosmético con un colorante añadido que no pertenezca a la lista y no ha sido aprobado por la FDA para un uso definido, es considerado alterado y sujeto a acción reguladora. (12)

El uso de los siguientes ingredientes en los cosméticos es restringido o prohibido: compuestos de mercurio, cloruro de vinilo, salicilánilidas halogenados, complejos de zirconio en cosméticos de aerosol, cloroformo, cloruro de metileno, propulsores de clorofluorocarburo y hexaclorofeno. La agencia también considera como cosméticos adulterados, productos para las uñas que contengan de metilo metacrilato o aquellos con más de 5% de formaldehído. Aunque no prohibido por ley o la regulación, los fabricantes de productos de fragancias cosméticas voluntariamente han acordado no usar, o por lo menos limitar, el uso máximo de niveles de ciertos ingredientes escogidos que son causa de despigmentación y reacciones alérgicas irritantes, neurotóxicas o fototóxicas. (12)

3.1.12 AUTORIDAD PARA EL CUMPLIMIENTO DE LA LEY:

Para el cumplimiento de la ley, la FDA puede llevar a cabo exámenes e investigaciones, inspeccionar establecimientos en donde los productos han sido manufacturados o retenidos y embargar cosméticos adulterados (perjudiciales), falsamente marcados (incorrectamente, engañosamente rotulados o envasados). A productos extranjeros adulterados o falsamente marcados, les será rehusada la entrada a los Estados Unidos. Para prevenir futuros cargamentos de productos adulterados o

falsamente marcados, la agencia tiene el derecho de solicitar de una corte de distrito federal, una orden de restricción contra el manufacturero o distribuidor del cosmético violador. Además, la FDA también puede iniciar acción criminal contra una persona violando la ley. Ejemplos de productos detenidos son preparaciones para las uñas conteniendo metilo metacrilato o formaldehído, algunos productos para teñir cejas y pestañas conteniendo combinaciones prohibidas de tintes de carbón-alquitrán y productos contaminados con microorganismos peligrosos. (13)

3.1.13 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA:

Las sombras de ojos tipo polvo no deben de contener más de 100 UFC (unidades formadoras de colonias), esto es lo máximo permitido por la FDA para productos usados alrededor de los ojos. Los análisis que se realizan en productos farmacéuticos no estériles son los siguientes:

- ✚ Recuento de microorganismos mesófilos aeróbicos
- ✚ Recuento de mohos y levaduras.
- ✚ Presencia de *Staphylococcus aureus*
- ✚ Presencia de *Escherichia coli*
- ✚ Presencias de *Pseudomonas aeruginosa*
- ✚ Presencia de *Salmonella Typha* (14)

El Laboratorio de Control de Calidad tiene como objetivo:

- ✚ Realización de estudios comparativos entre productos farmacéuticos de diferentes marcas con respecto al contenido de sustancias medicamentosas, uniformidad de dosis y parámetros de biodisponibilidad. (15)
- ✚ Ejecución de Análisis Físicoquímico de muestras de medicamentos, alimentos, cosméticos e insumos, para verificar su calidad de acuerdo a las Farmacopeas Internacionales para empresas privadas e instituciones del Gobierno. (15-16)

- ✚ Ejecución de Análisis Microbiológico de muestras de Medicamentos, alimentos e insumos para verificar su calidad microbiológica, para empresas privadas e instituciones de Gobierno. (16)
- ✚ Realización de estudios de estandarización de productos naturales.(16)

3.1.14 CONTEO AERÓBICO EN PLACA:

Es el recuento total de bacterias que pueden estar presentes en el cosmético, estos son procesos de enumeración, los cuales se basan en la suposición que las células microbianas presentes en una muestra mezclada con un medio sólido forman cada una independientemente, colonias separadas. Los recuentos deben reportarse como recuentos coloniales, unidad o de unidades formadoras de colonias. (17-18-19)

El medio óptimo y condiciones para determinar el recuento colonial pueden variar de una muestra a otra. Sin embargo, una vez que se determina el procedimiento óptico para una muestra dada puede ser muy útil para el análisis microbiológico rutinario. (20)

3.1.15 CONTEO EN PLACA DE HONGOS, MOHOS Y LEVADURAS:

Los mohos y levaduras constituyen un grupo amplio y heterogéneo formado por cientos de especies. Crecen en un amplio rango de pH desde menos de 2 hasta más de 9. La temperatura de crecimiento varía de 5 a 35° C, con especies capaces de crecer abajo o arriba de este rango; algunas especies crecen en alimentos con bajo contenido de agua disponible y con altas concentraciones de azúcar. (21-22-23)

La enumeración en placa de mohos y levaduras sigue el mismo principio de la enumeración de bacterias, pero utilizando medios específicos para su desarrollo e inhibición del crecimiento de la mayoría de las bacterias. El medio de agar papa dextrosa (PDA) acidificado ha sido comúnmente empleado, también puede utilizarse

agar de pH neutro suplementado con antibióticos (cloranfenicol, clorotetraciclina o ambos). (24)

3.2 TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN PREVIOS:

- ✿ Sánchez M. María (1981), realizó un trabajo de investigación en su tesis “Microbiología en Cosméticos” en donde se lleva a cabo un análisis de varios cosméticos para la identificación de los microorganismos que estos poseían, concluyó que algunos de los cosméticos analizados si contaban con la presencia de bacterias, pero dentro del límite permitido. (25)
- ✿ Miliam Marco Antonio (1975) inició una investigación en Guatemala en su trabajo de tesis “Diseño y Funcionamiento de un Sistema de Control de Calidad Microbiológica para una Planta de Cosméticos” concluyó que es necesario tener un adecuado sistema de control de calidad para que el producto terminado llene las expectativas del consumidor. (25)
- ✿ En 1977 se llevó a cabo un Congreso de los miembros de la Sociedad de Químicos Cosmetólogos de México, en el cual se discutieron las causas y las consecuencias de la contaminación microbiana en cosméticos, así como los métodos aconsejados por la USP para la determinación de esta contaminación, los cuales son el método de Vaciado en Placa y el Método de Tubo Múltiple.
- ✿ En 1971 se dió una reunión en Ottawa de las Secciones de producción y Técnicas de la Toilet Goods Manufactures Association y miembros del Food and Drug Administration, en la cual discutieron los límites microbiológicos recomendados, dando como conclusión no más de 500 microorganismos por gramo o mililitro de productos para ser usados alrededor de los ojos.

- ✿ En el año de 1970 dicho comité completó la producción de un código de Buena Práctica, se recomendó la publicación de un apéndice al código estableciendo los estándares de Higiene y Seguridad Microbiológica. Este apéndice debe de ser constantemente revisado para mantener su calidad y vigencia.

- ✿ En diciembre de 1967 la sociedad Química de Cosméticos de la Gran Bretaña y la Federación de Preparaciones de tocador, organizaron un comité para “Investigar y reportar sobre la deseabilidad e indeseabilidad de las recomendaciones de control legislativo en los intereses de la seguridad pública, como de los ingredientes y composición en las preparaciones de tocador y los usos por los cuales se promueven y para recomendar la forma y naturaleza de dicho control”.

4. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala día a día, aumenta el consumo de cosméticos, entre ellos se pueden mencionar las sombras de ojos, éstas al igual que los medicamentos deben cumplir con ciertas especificaciones, ya que entran en contacto con el organismo, específicamente en el área alrededor de los ojos. La habilidad de los microorganismos de crecer y reproducirse ha sido conocida por muchos años, estos pueden causar daño o cambio químico en los productos y sobre todo al consumidor, provocándole una conjuntivitis, por ejemplo.

En Guatemala, el mercado negro y contrabando de cosméticos se ha ido acrecentando día a día, razón por la cual se vió la necesidad de evaluar la calidad de éstos productos, ya que por comercializarse a bajo precio, son de gran demanda por los usuarios, de no ser así se pone en riesgo la salud de los consumidores al no verificarse la inocuidad de éstos.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL:

Contribuir con la Industria Cosmética de Guatemala proporcionando información verídica, sobre la calidad microbiológica de las sombras de ojos manufacturadas en Guatemala.

5.2 ESPECÍFICOS:

- 5.2.1 Evaluar la calidad microbiológica de las sombras de ojos manufacturadas en Guatemala por un laboratorio productor; determinando la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, microorganismos mesófilos aeróbicos, mohos y levaduras.
- 5.2.2 Verificar si los lotes analizados cumplen o no con la especificación de la FDA.
- 5.2.3 Aportar información de la calidad microbiológica de los cosméticos analizados y dar a conocer posteriormente los resultados obtenidos al Ministerio de Salud Pública, de las sombras de ojos analizadas, para realizar mejoras en la manufactura de éstos o mantener la calidad, según sean los resultados asegurando así, productos inocuos al consumidor.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1.1 UNIVERSO DE TRABAJO:

Las sombras para ojos tipo polvo compacto fueron seleccionadas de un Laboratorio productor de cosméticos guatemalteco, el cual fue elegido por la accesibilidad de costos a la población consumidora.

6.1.2 MUESTRA:

Se seleccionaron 4 lotes distintos (uno de cada centro distribuidor del laboratorio seleccionado) de los cuales se analizaron 5 muestras por cada lote, dando un total de 20 muestras. El análisis microbiológico se llevó a cabo en un laboratorio perteneciente a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala (ubicado en la Antigua Facultad), en el cual se realiza este tipo de análisis.

6.1.3 MATERIALES Y REACTIVOS:

- ✚ Solución buffer de fosfatos a pH 7.2
- ✚ Solución salina 0.85%
- ✚ Caldo digerido de caseína-soya-lecitina-polisorbato 20 (TWEEN 20).
- ✚ Agar Trypticase soya
- ✚ Caldo Trypticase soya
- ✚ Agar tripticase soya-lecitina-polisorbato 80 (TWEEN 80)
- ✚ Agar Manitol-Sal
- ✚ Agar Baird Parker
- ✚ Agar Vogel-Johnson
- ✚ Agar Cetrimida
- ✚ Agar pseudomonas para la detección de fluoresceína
- ✚ Agar Pseudomonas para la detección de piocianina
- ✚ Caldo Lactosado
- ✚ Caldo Selenito Cistina
- ✚ Caldo tetrarionato (Tubos de 10 mL.)
- ✚ Agar Verde Brillante (Se preparó y se esterilizó el mismo día de uso).

- ✚ Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD)
- ✚ AGAR Sulfito-Bismuto
- ✚ Agar Triple azúcar-Hierro (TSI)
- ✚ Agar MacConkey
- ✚ Agar Levnine-Eosina-Azul de Metileno (EMB)
- ✚ Agar Dextrosa Sabouraud
- ✚ Agar Papa Dextrosa (PDA) (26)

6.1.4 MEDIOS PARA ENUMERACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS

HONGOS:

- ✚ Agar papa dextrosa (PDA)
- ✚ Agar Lethen modificado (ALM)
- ✚ Caldo Sabouraud`s dextrosa (26)

6.1.5 ANÁLISIS PRELIMINARES:

- ✚ Se utilizaron cepas certificadas ATCC* para las pruebas preliminares.
- ✚ A partir de los cultivos de 18 a 24 horas de incubación en caldo Tripticasa Soya, de cada uno de los microorganismos control, se prepararon diluciones decimales por lo menos hasta 10^{-3} .
- ✚ Se inocularon 1 mL. de la suspensión anterior en la primera dilución del producto.
- ✚ Luego se efectuó el procedimiento descrito para cada microorganismo.(26)

*Cepas ATCC son siglas las cuales significan American Type Culture Collection, estas son cepas control que se utilizan en análisis microbiológicos, en identificaciones bioquímicas, control de calidad, identificación de colonias por morfología o por reacción al factor en estudio, entre otras. Son parámetros de referencia utilizados en diversas investigaciones.

6.2 PROCEDIMIENTO:

6.2.1 MANEJO DE MUESTRAS COSMÉTICAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO:

Las muestras se analizaron lo más pronto posible después de su ingreso y a su vez se almacenaron a temperatura ambiente. No se incubaron, ni se congelaron antes o después del análisis. Se inspeccionaron cuidadosamente antes de ser abiertas y se anotaron las irregularidades en el contenedor. Se desinfectó la superficie del contenedor con la mezcla acuosa de etanol al 70% y HCL al 1%. Se utilizó una campana de flujo laminar en la cual se le limpió la superficie con gasa antes de abrir. Se usó una porción representativa del contenido para el análisis microbiológico. (27)

6.2.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

La cantidad de muestra y diluyente fueron ajustados según la cantidad de muestra disponible. (27)

Procedimiento:

- ✚ Para cada análisis se contó con por lo menos 10 g de muestra.
- ✚ De acuerdo a las características físicas de la muestra, se eligió el método adecuado para obtener una solución, suspensión o emulsión sin alterar el número y clase de microorganismo.
- ✚ La primera dilución de la muestra fue 1:10.
- ✚ En función del grado de contaminación del producto, se efectuaron las diluciones decimales que se estimaron convenientes. Para obtener la segunda dilución del producto, se tomó 1 mL de la primera dilución a un tubo conteniendo 9 mL. de solución diluída de fosfatos de pH 7.2. Las demás diluciones se realizaron de la misma forma.
- ✚ Se redujo el sólido a partículas moderadamente finas. (27)

6.2.3 RECuento DE ORGANISMOS MESÓFILOS AEROBIOS:

6.2.3.1 VERTIDO EN PLACA:

- ✚ Se efectuaron las diluciones decimales necesarias para que por caja se obtengan conteos entre 30 y 300 UFC/ML.
- ✚ Se inoculó por duplicado cada dilución del producto.
- ✚ Se añadió a cada caja de 15-20 ml. de el medio Trypticase Soya o agar Trypticase soya-Lecitina de soya-polisorbato, temperados de 45° C-48° C.
- ✚ Con movimiento suaves rotarorios, se mezcló la alícuota de la muestra con el medio de cultivo, evitando derramar el medio.
- ✚ Se incubaron las cajas en posición invertida a 35° C +/- 2° C, durante 48-72 horas. (27-28)

6.2.3.2 CÁLCULO DE UFC:

- ✚ Después del período de incubación, se contó el número de UFC, auxiliándose de una lupa o cámara de Québec.
- ✚ Se determinaron las UFC de la caja 1 (UFC1) y de la caja 2 (UFC2).
- ✚ El promedio se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$N = EC / (1 * n1) + (0.1 * n2) * (d)$$

N = número de colonias por mL o gr. de producto.

E = sumatoria

C = suma de todas las colonias en todas las placas contadas.

n1 = número de placas en la primera dilución contadas

n2 = número de placas en la segunda dilución contadas

d = dilución en la que se obtuvo los primeros conteos (27-28)

6.2.4 MÉTODO DE FERMENTACIÓN EN TUBOS MÚLTIPLES:

- ✚ Se colocaron 12 tubos conteniendo 9 mL. Del caldo Tripticasa Soya: 4 series de 3 tubos.
- ✚ Se inocularon 1 mL. de las diluciones 1:10, 1:100, 1:1000, en la 1ra, 2da y 3era series, respectivamente.
- ✚ La cuarta serie quedó como un blanco control.
- ✚ Se agitaron los tubos y se incubaron a 35° C +/- 2° C durante 48 horas.
- ✚ Después del período de incubación, se anotó el número de tubos de cada dilución con turbiedad debida al crecimiento microbiológico.(27-28)

6.2.5 AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Pseudomona aeruginosa* y *S. Aureus*:

- ✚ Se pesaron 10.0 g. de la muestra para 90 ml. de caldo de Tripticasa Soya.
- ✚ Se mezclaron e incubaron a 35° C por 24-48 horas.
- ✚ Se tomó una asada de este cultivo y se sembró por estría cruzada en los siguientes medios de cultivo:

Para *S. aureus*:

Agar Manitol-Sal
Agar Baird-Parker
Agar Vogel-Jonson

- ✚ Se incubaron a 35° C por 24 horas.
- ✚ Se describieron las características morfológicas de las colonias y las reacciones bioquímicas observadas en cada uno de los medios inoculados (ver anexo 2).
- ✚ Las colonias características fueron confirmadas utilizando la prueba de Coagulasa.
- ✚ Se realizó la tinción de GRAM para las colonias sospechosas.

Para *Pseudomona aeruginosa*:

Agar Cetrinida

- + Se incubaron a 35° C por 24 horas.
- + Se describieron las características morfológicas de las colonias y las reacciones bioquímicas observadas en cada uno de los medios inoculados (Ver anexo 3).
- + Las colonias características fueron confirmadas utilizando la prueba de Oxidasa.
- + Se realizaron las tinciones de GRAM para las colonias sospechosas. (27-28)

6.2.6 AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Salmonella* spp. Y *Escherichia coli*:

- + Se pesaron 10.0 g. de la muestra para 90 mL. de caldo Lactosado (simple).
- + Se incubaron por 24 horas a 35° C.
- + Se tomó 1 mL. del caldo pre-enriquecimiento y se agregó a 10 mL. de caldo Selenito-Cistina y 10 mL. de caldo Tetrationato.
- + Se mezcló y se incubó de 18 a 24 horas a 35° C.

Para *Salmonella* spp:

Agar Verde Brillante

Agar XLD (Xilosa-Lisina-Desoxicolato)

Agar Sulfito Bismuto

- + Se tomó una asada de cada uno de los caldos y se resembró por estría cruzada en los medios anteriores.
- + Se incubaron por 24 horas a 35° C (excepto el agar Sulfito Bismuto, el cual puede ser incubado por 48 horas).
- + Se observó si existen características de *Salmonella* (Ver anexo 4).

Para *Escherichia coli*:

A partir de caldo lactosado, se aíslan las colonias resembrando por estría cruzada en el Agar Levine-Azul de Metileno (EMB) o en el agar

McConkey. Si se aíslan colonias de *E. Coli* entonces, realizar una batería de identificación bioquímica para enterobacterias (TSI, LIA, MIO/SIM, CITRATO, UREA).

6.3.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:

6.3.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN: Descriptivo, observacional.

6.3.1.2 MUESTRA Y DESEÑO DE MUESTREO:

De la marca seleccionada se tomaron por conveniencia 20 muestras. Se seleccionaron 5 muestras de 4 lotes distintos (cada lote fue tomado de los diferentes centros de distribución y en diferente fecha).

6.3.1.3 MÉTODO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

Análisis descriptivo de las variables a analizar (Recuento Hererotrófico en Placa, Recuento de Mohos y levaduras, *Escherichia Coli*, *Salmonella typhi*, *Satphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*) y en general, si cumplen o no (las muestras analizadas) las normas de calidad microbiológica establecidas por la FDA. Se realizó el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (ver recuento de organismos mesófilos aerobios) y se determinó la presencia de las bacterias antes mencionadas, los datos se redactaron, registraron y tabularon en el informe de análisis microbiológico (ver anexo 1). El cual permitió posteriormente formular las conclusiones de la investigación de manera pertinente.

7. RESULTADOS

Tabla No. 1

No. De ingreso:	Pool No. 1	No. De muestra:	5
Dirigido a:	Lourdes Aceituno	Ingreso:	06/02/06
Empresa:	-----	Inicio de Análisis:	06/02/06
Nombre del producto:	Sombras para ojos	Reporte final:	13/02/06
Presentación:	polvo compacto	No. De Lote:	06-03

ANÁLISIS	RESULTADO	DIMENSIONAL	USP, AÑO 2,005
Recuento Hererotrófico en Placa	6.0 x 10 ⁸ UFC/gr	UFC/ (Agar PCA, 3-5 días/32.5 ± 2.5° C)	≤ 500 UFC/mL
Recuento de Mohos y Levaduras	< 10 UFC/gr	UFC/ (Agar PDA, 7 días/22.5 ± 2.5°C)	≤ 100 UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo lactosado, Agar McK, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Salmonella typhi</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo lactosado, Agar BPLS, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo tripticasa soya, Agar VJ, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo tripticasa soya, Agar Cetrimida, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia

Métodos de Referencia: Pharmacopea USP, año 2,005.

Otro contaminante: *Staphylococcus saprofiticus*.

Tabla No. 2

No. De ingreso:	Pool No. 2	No. De muestra:	5
Dirigido a:	Lourdes Aceituno	Ingreso:	13/02/06
Empresa:	-----	Inicio de Análisis:	13/02/06
Nombre del producto:	Sombras para ojos	Reporte final:	20/02/06
Presentación:	polvo compacto	No. De Lote:	03-002

ANÁLISIS	RESULTADO	DIMENSIONAL	USP, AÑO 2,005
Recuento Hererotrófico en Placa	1.0 x 10 ⁸ UFC/gr	UFC/ (Agar PCA, 3-5 días/32.5 ± 2.5° C)	≤ 500 UFC/mL
Recuento de Mohos y Levaduras	<10 UFC/gr	UFC/ (Agar PDA, 7 días/22.5 ± 2.5°C)	≤ 100 UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo lactosado, Agar McK, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Salmonella typhi</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo lactosado, Agar BPLS, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo tripticasa soya, Agar VJ, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo tripticasa soya, Agar Cetrimida, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia

Métodos de Referencia: Pharmacopea USP, año 2,005.

Otro contaminante: *Staphylococcus saprofiticus*.

Tabla No. 3

No. De ingreso:	Pool No. 3	No. De muestra:	5
Dirigido a:	Lourdes Aceituno	Ingreso:	20/02/06
Empresa:	-----	Inicio de Análisis:	20/02/06
Nombre del producto:	Sombras para ojos	Reporte final:	27/02/06
Presentación:	polvo compacto	No. De Lote:	06-02

ANÁLISIS	RESULTADO	DIMENSIONAL	USP, AÑO 2,005
Recuento Hererotrófico en Placa	5.0 x 10 ⁹ UFC/gr	UFC/ (Agar PCA, 3-5 días/32.5 ± 2.5° C)	≤ 500 UFC/mL
Recuento de Mohos y Levaduras	<10 UFC/gr	UFC/ (Agar PDA, 7 días/22.5 ± 2.5°C)	≤ 100 UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo lactosado, Agar McK, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Salmonella typhi</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo lactosado, Agar BPLS, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo tripticasa soya, Agar VJ, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo tripticasa soya, Agar Cetrimida, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia

Métodos de Referencia: Pharmacopea USP, año 2,005.

Otro contaminante: *Staphylococcus saprofiticus*.

Tabla No. 4

No. De ingreso:	Pool No. 4	No. De muestra:	5
Dirigido a:	Lourdes Aceituno	Ingreso:	27/02/06
Empresa:	-----	Inicio de Análisis:	27/02/06
Nombre del producto:	Sombras para ojos	Reporte final:	06/03/06
Presentación:	polvo compacto	No. De Lote:	03-003

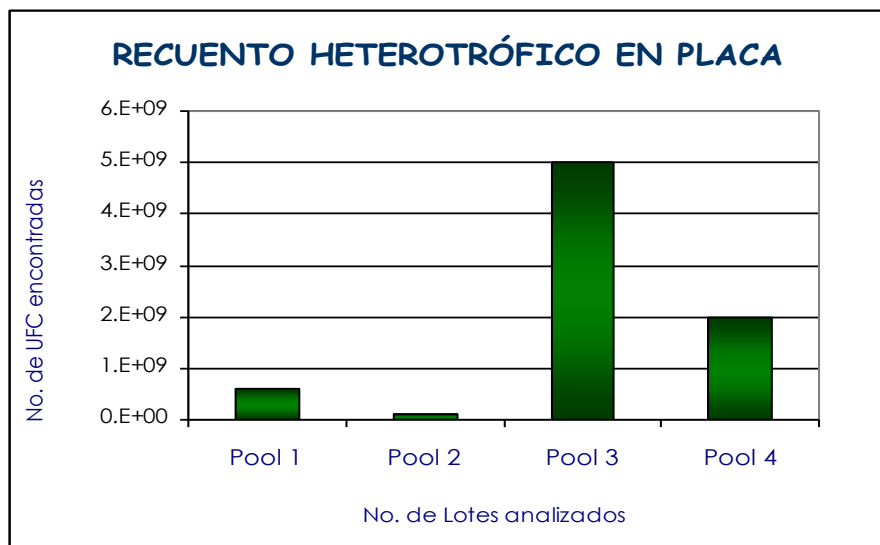
ANÁLISIS	RESULTADO	DIMENSIONAL	USP, AÑO 2,005
Recuento Hererotrófico en Placa	2.0 x 10 ⁹ UFC/gr	UFC/ (Agar PCA, 3-5 días/32.5 ± 2.5° C)	≤ 500 UFC/mL
Recuento de Mohos y Levaduras	10 UFC/gr	UFC/ (Agar PDA, 7 días/22.5 ± 2.5°C)	≤ 100 UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo lactosado, Agar McK, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Salmonella typhi</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo lactosado, Agar BPLS, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo tripticasa soya, Agar VJ, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia	Sin dimensionales (Caldo tripticasa soya, Agar Cetrimida, 4 días/32.5 ± 2.5°C)	Ausencia

Métodos de Referencia: Pharmacopea USP, año 2,005.

Otro contaminante: *Staphylococcus saprofiticus*.

GRÁFICAS DE RESULTADOS

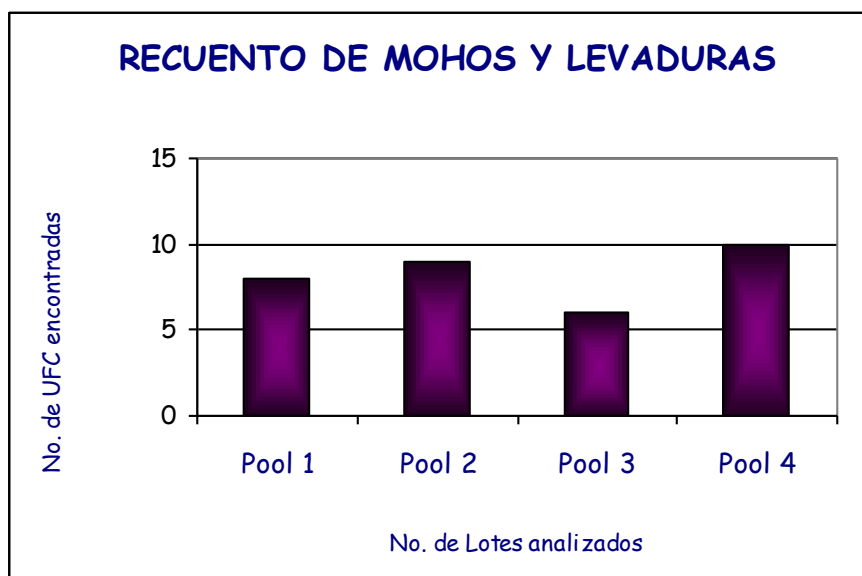
Gráfica No. 1



Valores teóricos:

Pool 1: 6.0×10^8 UFC/grPool 3: 5.0×10^9 UFC/grPool 2: 1.0×10^8 UFC/grPool 4: 2.0×10^9 UFC/gr

Gráfica No. 2



Valores teóricos:

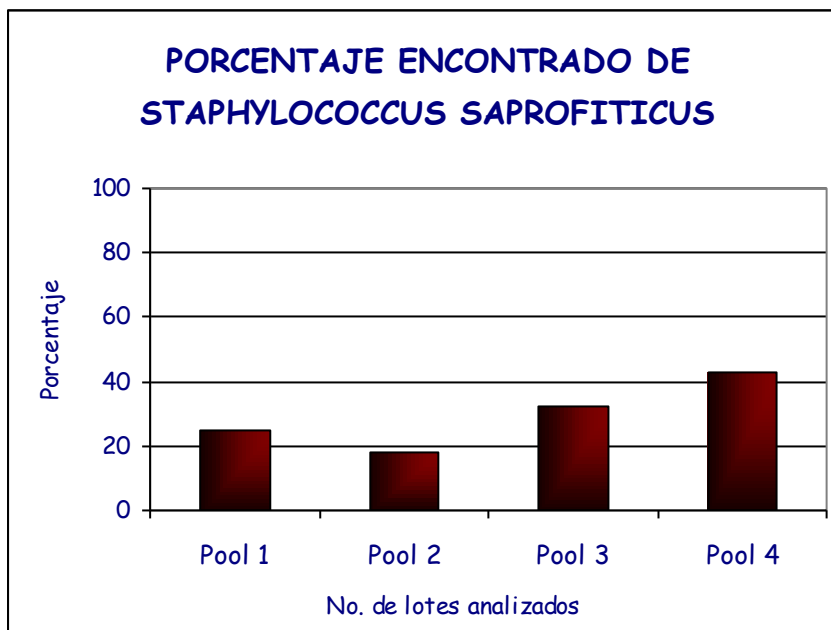
Pool 1: 8 UFC/gr

Pool 3: 6 UFC/gr

Pool 2: 9 UFC/gr

Pool 4: 10 UFC/gr

Gráfica No. 3



Valores teóricos:

Pool 1: 23%

Pool 2: 19%

Pool 3: 37%

Pool 4: 43%

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente trabajo tuvo como fin la 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, donde se determinó la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, recuento heterotrófico en placa y recuento de mohos y levaduras, observándose un número elevado de en su Recuento Heterotrófico en placa , así como también se aisló *Staphylococcus saprofiticus* como contaminante, esto se evidenció en todas las muestras analizadas.

La normativa tomada como referencia para la interpretación de resultados fue la establecida por la Pharmacopea USP 2005, la cual es empleada como parámetro en el laboratorio donde se llevó a cabo el análisis microbiológico del cosmético analizado.

La investigación fue realizada tomando 4 lotes distintos del cosmético a analizar (uno de cada centro distribuidor del laboratorio seleccionado) de los cuales se analizaron 5 muestras por cada lote, dando un total de 20 muestras.

Como se puede observar en las tablas No. 1, No. 2, No.3, No. 4 y Gráfica No. 1 se evidencia el número elevado en el Recuento Heterotrófico en Placa, este es mayor al límite establecido por el método de referencia (1000 UFC/mL), lo cual puede provocar en el usuario de dicho cosmético desde una infección o irritación leve en el área ocular hasta una grave infección entre la cual está una conjuntivitis severa; en la Gráfica No. 2 se observa que el Recuento de Mohos y Levaduras de los lotes analizados es menor a los establecido (100 UFC/mL), también se logró aislar en diferente porcentaje (Gráfica No. 3) otro contaminante como lo es el *Staphylococcus saprofiticus* , el cual está presente en piel normal y en la flora periuretral y uretral de manera transitoria y en pequeñas cantidades, su presencia en las sombras se puede deber a una mala manipulación del cosmético durante su manufactura, con lo cual se evidencia malas prácticas de manufactura en el proceso de elaboración de dicho cosmético. Al observar las tablas de resultados se evidencia que en ninguno de los lotes analizados se determinó la presencia de *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, lo cual aumentaría el riesgo para el usuario al aplicar el cosmético en el párpado.

Según los resultados obtenidos, se determinó que las sombras de ojos tipo polvo compacto analizadas no cumplen los requerimientos básicos para ser utilizadas por el consumidor, éstas presentan contaminación microbiológica lo cual representa un riesgo para los usuarios.

Investigaciones de este tipo dan a conocer el papel tan importante que juegan los profesionales en la industria, para que un cosmético cumpla con las expectativas del consumidor, éste debe estar sujeto a un proceso de elaboración llevado a cabo con altas normas de calidad. Todo laboratorio debe contar con profesionales éticos que cumplan su labor y desempeñen su trabajo dando lo mejor de sí y que a su vez velen por el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura y principalmente para salvaguardar la salud del usuario.

La calidad de un cosmético se construye a lo largo del proceso, esto implica desde un análisis de materia prima completo hasta llegar al producto final. Durante dicho proceso tanto profesionales como operarios juegan un papel muy importante ya que son ellos los que están en contacto directo con el cosmético. Se deben de mantener normas de higiene básicas y estrictas entre el personal que labora en la planta y, sobre todo, el material y equipo a utilizar deben estar libres de contaminación para evitar que ésta dañe nuestro producto final.

Además, es necesario promover la capacitación continua del personal para ir creando conciencia en los operarios de la trascendencia que tiene una mala práctica en la industria y en la salud del consumidor, así como en el deterioro de la imagen y la marca de los productos guatemaltecos. Otro aspecto importante es que si el país quiere exportar sus productos, estos deben cumplir con los estándares de calidad mínimos, por lo que las empresas guatemaltecas tienen un reto muy grande a las puertas, que es el de mejorar la calidad de los productos o arriesgarse a perder la inversión, tiempo y prestigio al ser desplazadas por otras empresas que sí cumplan con los estándares de calidad o que superen las expectativas de los consumidores.

9. CONCLUSIONES

- 9.1 La evaluación de la calidad microbiológica de los cosméticos analizados indica la ausencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, mohos y levaduras como contaminantes.
- 9.2 Se identificó la presencia de *Staphylococcus saprofíticus* como contaminante de los cosméticos analizados, en un 100% de las muestras.
- 9.3 Las sombras analizadas superan el límite de Unidades Formadoras de Colonias permitido en el método de referencia utilizado, establecido por la Farmacopea USP 25, en el recuento Heterotrófico en Placa, lo cual indica contaminación en dicho cosmético.
- 9.4 Las sombras analizadas no cumplen con los parámetros permitidos en el método de referencia utilizado, establecidos por la Farmacopea USP 25, por lo que poseen contaminación microbiológica.

10. RECOMENDACIONES

- 10.1 Por tratarse de una investigación descriptiva no es posible generalizar los resultados obtenidos hacia todas las sombras de ojos tipo polvo compacto manufacturadas en Guatemala, pero puede ser utilizada como una guía que encamine la realización de próximas investigaciones que tomen en cuenta una mayor población para lograr establecer resultados más exactos.
- 10.2 Realizar investigaciones en las cuales se comparen un mayor número de muestras y de laboratorios, siempre y cuando se cuente con la colaboración de los últimos, ya que el costo de este tipo de estudios es elevado.
- 10.3 Al Ministerio de Salud que realicen inspecciones más frecuentes a las empresas fabricantes de cosméticos a nivel nacional y que verifiquen la calidad de los productos manufacturados, los cuales deben ser inocuos al consumidor.
- 10.4 A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia que promueva la realización de trabajos de tesis enfocados en el cumplimiento de la calidad de productos cosméticos a través de Buenas Prácticas de Manufactura.

11. REFERENCIAS

1. American Public Health Association. 1992. Compendium of Methods for the Microbial Examination of Cosmetics. 3 Ed. Chapter 16 APHA Washington, D.C.
2. Mendoza, Galindo, Silvia. 1971 Algunas Consideraciones sobre la Contaminación Microbiológica de los Productos Cosméticos. El uso de agentes conservadores. American Perfumer and cosmetics, Spain.
3. Food and Drug Administration (FDA). 2000. Bacteriological Analytical Manual (BAM). 8 ed. Chapter18. International Arlington, VA.
4. American Public Health Association. 1999. Compendium of Methods for the Microbial Examination of Cosmetics. 3 Ed. Chapter 4 APHA Washington, D.C.
5. Senzel, A. J. Newburger's Manual of Cosmetics Analysis. 2002 Association of Official Analytical Chemists. Inc. 6 Ed. Washington. D.C.
6. Reglamento para el control sanitario de los medicamentos y productos afines. Acuerdo Gubernativo Número 712-99. Guatemala, 1999.
7. ABBE, N.J. Van Dixon H., Hughes, O., Voodroffe, R.C.S. 1985 The Hygienic Manufacture and Preservation of Toileties and Cosmetics. Society of cosmetics Chemists of Great Britain, Gran Bretaña.
8. Jawet, E. Et al, Microbiología Médica. Editorial Manual Moderno. 5 Ed. 1999.
9. BBL. 1989 Manual de procedimientos de Laboratorio y de productos BBL. Becton, Dickinson de México, S.A. México.
10. Borrad, M.S., Sagarini, Eduard. 1990. Cosmetics, Science and Technology.
11. DIFCO. 1996 Product Selection Guide and Literature Catalog. Difco laboratory, USA.

12. BLOMFIELD, S.F., BAIRD, R., LEAK,R., LEECH,R. 1998. "Microbiological Quality Assurance in Pharmaceuticals cosmetics and toiletries. "Ellis Horwood, London.
13. Wilkinson, J.B., Moore, R.JU. 1990. Cosmetología de Harry. Ediciones Días de santos. S.A. Madrid
14. The United Sates Pharmacopea. 2001 The United States Pharmacopea Convention Inc. XIX ed. Mack Publishing co., USA.
15. Kallings y Colbs. 1999. Microbial Contamination of Cosmetics. Report the Swedish board of Health. Stocolm. Sweden.
16. Lenntte, Edwin H. Earle H. Spaulding Joseph P. 1999. Manual of Microbiology. 5 Ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
17. Association of Official Analytical Chemists. 1990 Official Methods of Analysis. 15 Ed. AOAC. Arlington, VA.
18. Dr. Stanley S. Raphael. Métodos de Laboratorio.2001. Editorial Interamericana. 7 Ed. México, D.F.
19. Kolmer, John A. 1999. Métodos de Análisis de Laboratorio de Cosméticos. Editorial Interamericana. México, D.F.
20. Tomasieewiez DM Hotehkiss, GW Reinbold, RB Read JR and PA Hartman. 1999. The Most Suitable Number of Colonies on Plates for counting. J Food Prot. 43:282.286
21. Murray, Patrick R. Manual of Clinical Microbiology. 1995
22. Marvin L Speck. Manual of compendium of Methods for the Microbiological Examination. 2000.
23. Egbert Charlet. 2000. Preservation and Manufacture of Cosmetics . 4 ed. Chapter 5. Society of cosmetics Chemists of Great Britain, Gran Bretaña.

24. Yablonsk, John. Microbiological aspects of Sanitary Cosmetics Manufacturing. Cosmetics and Toiletries. 2001
25. Milian Carballido, Marco Antonio. 1975. Guatemala. Químico Farmacéutico. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica. *Diseño y Funcionamiento de un Sistema de control de calidad microbiológica para una planta de cosméticos.*
26. Sánchez Gonzáles, Maria Mercedes. 1981. Guatemala. Químico Farmacéutico Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica. Microbiología en Cosméticos.
27. Bacteriological Analytical Manual. April 2003. U.S. Departament for Health and Human Services. U.S. Food & Drug Administration (FDA), Center for Food Safety & Applied Nutrition. Pag. 350-360.

ANEXOS

Anexo No. 1

Informe de Resultados de Análisis Microbiológico

No. De ingreso:

No. De muestra:

Dirigido a:

Ingreso:

Empresa:

Inicio de Análisis:

Nombre del producto:

Reporte final:

Presentación:

No. De Lote:

ANÁLISIS	RESULTADO	DIMENSIONAL	USP, AÑO 2,005
Recuento Hererotrófico en Placa		UFC/ (Agar PCA, 3-5 días/ $32.5 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$)	≤ 500 UFC/mL
Recuento de Mohos y Levaduras		UFC/ (Agar PDA, 7 días/ $22.5 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$)	≤ 100 UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>		Sin dimensionales (Caldo lactosado, Agar McK, 4 días/ $32.5 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$)	Ausencia
<i>Salmonella typhi</i>		Sin dimensionales (Caldo lactosado, Agar BPLS, 4 días/ $32.5 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$)	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>		Sin dimensionales (Caldo tripticasa soya, Agar VJ, 4 días/ $32.5 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$)	Ausencia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Sin dimensionales (Caldo tripticasa soya, Agar Cetrimida, 4 días/ $32.5 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$)	Ausencia

Métodos de Referencia: Pharmacopea USP, año 2,005.

Anexo No. 2

Características de crecimiento de *S. Aureus* en los diferentes medios utilizados

MEDIOS DE CULTIVO	MORFOLOGÍA COLONIAL	MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA (GRAM)
Manitol-Sal	Colonias amarillas rodeadas de una zona amarilla.	Cocos gram positivo, agrupados en racimos.
Baird-Parker	Colonias negras lustrosas rodeadas de zonas claras.	Cocos gram positivos, agrupados en racimos.
Vogel-Johnson	Colonias negras rodeadas de una zona amarilla.	Cocos gram positivos, agrupados en racimos.

Fuente: USP 26

Anexo No.3

Características de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* en los diferentes medios utilizados

MEDIO DE CULTIVO	MORFOLOGÍA COLONIAL	MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA (GRAM)	OXIDASA
Agar Cetrimida	Colonias verde-azules, a la luz UV se observa fluorescencia verde.	Bacilos gram negativo	Positiva
Agar <i>Pseudomonas</i> para detección de fluoresceína	Colonias incoloras o amarillentas, a la luz UV se observa fluorescencia amarilla.	Bacilos gram negativo	Positiva
Agar para detección de piocianina	Colonias verde-azules, a la luz UV se observa fluorescencia azul.	Bacilos gram negativo	Positiva

Fuente: USP 26

Anexo No. 4

Características de crecimiento de *Salmonella spp.* en los diferentes medios utilizados

MEDIO DE CULTIVO	MORFOLOGÍA COLONIAL	MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA (GRAM)
Agar Verde Brillante	Colonias pequeñas transparentes incoloras o blancas opacas, frecuentemente rodeadas de una zona rosa o roja.	Bacilos gram negativos
Agar XLD	Colonias que no modifican el medio, rojas con o sin centro negro.	Bacilos gram negativos
Agar Sulfito Bismuto	Colonias negras o verdes	Bacilos gram negativos
TSI	Superficie alcalina (roja) y fondo ácido (amarillo), con o sin producción de ácido sulfhídrico (negro).	Bacilos gram negativos

Fuente: USP 26

Anexo No. 5

Características de crecimiento de *Escherichia coli* en los diferentes medios
utilizados

MEDIO DE CULTIVO	MORFOLOGÍA COLONIAL	MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA (GRAM)
Agar McConkey	Colonias grandes rosas-rojas, rodeadas de una zona de precipitación.	Bacilos gram negativo
Agar Levine-Eosina-Azul de metileno (EMB)	Colonias pequeñas azul-negro con brillo metálico de color verde.	Bacilos gram negativo

Fuente: USP 26

María de Lourdes Aceituno Martínez
Autor

Licda. Julia Amparo García Bolaños
Asesor

Licda. Ana Rodas de G.
Co-Asesor

Licda. Lucrecia Martínez
Revisora

Licda. Lillian Irving Antillón, M.A.
Directora

Lic. Manuel Gerardo Arroyo Catalán, M.Sc.
Decano