

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS**  
**ESPECIALIDAD EN TECNOLOGÍA COSMÉTICA**



**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS  
DELINEADORES LÍQUIDOS PARA OJOS EN EL MERCADO DE  
LA ZONA “UYUSTUS” DE LA CIUDAD DE LA PAZ**

Trabajo de Grado para obtener el grado académico de Especialista en  
Tecnología Cosmética.

**Elaborado por: Lic. Doris Lilian Tirado Villarroel**

LA PAZ – BOLIVIA

Mayo, 2019

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS**  
**ESPECIALIDAD EN TECNOLOGÍA COSMÉTICA**



**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS  
DELINEADORES LÍQUIDOS PARA OJOS EN EL MERCADO DE  
LA ZONA “UYUSTUS” DE LA CIUDAD DE LA PAZ**

Trabajo de grado para obtener el grado académico de Especialista en  
Tecnología Cosmética.

**Elaborado por: Lic. Doris Lilian Tirado Villarroel**

**Tutora: Msc. Rosaura Carón Estrada**

LA PAZ – BOLIVIA

Mayo, 2019

## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestro Creador, por permitirme estar presente hoy en este reto que alimenta mi formación profesional personal y laboral.

Pondero la visión de la Facultad de Bioquímica y Farmacia, que siempre se encuentran en la búsqueda incesante de la superación profesional de sus alumnos y a través de ellos, permiten que los profesionales del área, estén motivados y actualizados; gracias a todos los profesionales farmacéuticos, que me brindaron su apoyo para la conclusión de este proyecto.

A mis amados padres *Adolfo y Felicidad*, que fueron los mentores de mi vida y formación; a mi esposo *Hugo*, mis hijos *Valeria y Rodrigo* que son el motor para que siga adelante en esta noble profesión quienes con su ayuda, opinión y crítica, me llenan de mucha energía, ánimo y por sobre todo mucho amor...

## **DEDICATORIA**

EN LA VIDA...  
EXISTEN PERSONAS  
QUE NO SE VALORAN POR SI MISMOS,  
NO DESTAPAN LOS VELOS  
QUE CUBREN LOS OJOS DE SU ALMA  
Y NO AGRADECEN A DIOS,  
POR LA MARAVILLOSA OPORTUNIDAD  
QUE DEPOSITA EN NUESTRAS VIDAS  
PARA SER CADA UNO DE NOSOTROS,  
SERES DE LUZ Y AMOR...

Doris Lilian Tirado Villarroel

Mayo, 2018

## **SUMMARY**

**KEY WORDS: CGMP (Cosmetic Good Manufacturing Practices), Microbiology, Cosmetics, Eyeliner, Pathologies.**

The Bolivian norm of Good Manufacturing Practices for the Cosmetic Industry in the Andean Community (Annex 2) has been taken as the fundamental basis for the development of this project. As well as the literature on which the main topic is discussed which is the possible eye infections that can occur due to the use of contaminated cosmetics. The ingredients of the formulation of the liquid eyeliners as well as their toxic components have also been reviewed.

Likewise, the objective of this project is to expose, through microbiological tests, whether the cosmetics in this case "liquid eyeliners", present in the zonal market "Uyustus" of the city of La Paz, meet the regulatory requirements of good cosmetic manufacturing practices in the microbiological field, since its used in such a sensitive area, it could be considered a source of different ocular pathologies when the liquid eyeliner is contaminated.

It basically considers the performance of laboratory tests based on international pharmacopoeias (USP) to determine the microbiological quality of each of the acquired samples. Bearing in mind that when there is bacterial contamination, sometimes, physical changes in appearance can be verified initially, like color distortion and / or change in odor of the product; but when microbiological contamination does not show any of these changes, it is when the risk to the final customer is greater.

In favor of the samples taken, a microbiological component that could be dangerous to its use is not representative, concluding that since there is no initial significant contamination, it can be used in time to cause some representative damage.

It is expected that this research contribution can satisfy the expectation created, whose conclusions and recommendations will be made based on the results obtained.

## **RESUMEN**

**PALABRA CLAVE: BPMC (Buenas Prácticas de Manufactura Cosmética), Microbiología, Cosmética, Delineador de ojos, Patologías.**

Para el desarrollo del presente proyecto de grado se ha tomado como base fundamental la norma boliviana de las Buenas Prácticas de Manufactura para la Industria del Cosmético en la Comunidad Andina (Anexo 2), de igual manera la literatura donde se tiene como sustento principal, las posibles infecciones oculares que se pueden presentar por el uso de cosméticos contaminados. Los ingredientes de la formulación de los delineadores líquidos para ojos así como de sus componentes tóxicos han sido también revisados.

Así mismo, el objetivo de este proyecto es exponer, a través de pruebas microbiológicas, si los cosméticos en este caso “delineadores líquidos para ojos”, presentes en el mercado zonal “Uyustus” de la ciudad de La Paz, cumplen con los requisitos normativos de Buenas Prácticas de Manufactura cosméticas en el tema microbiológico, puesto que, al ser destinado en su uso a un área tan sensible, podría ser considerado una fuente de diferentes patologías oculares si el delineador líquido, está contaminado.

Básicamente considera la realización de pruebas de laboratorio basadas en farmacopeas internacionales (USP) para determinar la calidad microbiológica de cada una de las muestras adquiridas, teniendo en cuenta que cuando hay contaminación bacteriana en algunos casos, se puede verificar inicialmente cambios físicos en la apariencia, distorsión de color y/o cambio en el olor del producto; pero cuando la contaminación microbiológica no muestra ninguno de estos cambios, es cuando el riesgo para el cliente final es mayor.

En favor de las muestras utilizadas, no se encuentra representativamente un componente microbiológico que pueda ser peligroso a su uso, concluyendo que al

existir una contaminación inicial no significativa, puede con su uso en el tiempo ocasionar algún daño representativo.

Se espera que este aporte investigativo pueda satisfacer la expectativa creada, cuyas conclusiones y recomendaciones estarán efectuadas en función a los resultados obtenidos.

## ÍNDICE

### CAPITULO I

	<b>Página</b>	
1	INTRODUCCION	1
2	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
3	PREGUNTA DE LA INVESTIGACION	5
4	OBJETIVOS	5
4.1	OBJETIVO GENERAL	5
4.2	OBJETIVO ESPECIFICOS	6
5	JUSTIFICACIONES	6
5.1	JUSTIFICACION ACADEMICA	6
5.2	JUSTIFICACION TECNICA	6
5.3	JUSTIFICACION SOCIAL	7
6	METODOLOGIA DE INVESTIGACION DEL TRABAJO DE GRADO	7

### CAPITULO II: MARCO TEORICO

1	ANALISIS DEL OBJETO DE ESTUDIO	9
1.1	EVALUACION	10
1.2	COSMETICOS	10
1.2.1	Definición de cosmético	10
1.2.2	Clasificación de los productos cosméticos	11
1.3	COSMETICOS DECORATIVOS	11



1.4	COSMETICOS DECORATIVOS ESPECIFICOS PARA LA REGION DE LOS OJOS	12
1.5	COMPONENTES DE LOS COSMETICOS	13
1.5.1	Ingredientes activos	13
1.5.2	Excipientes y aditivos	13
1.6	COMPONENTES TOXICOS DE LOS COSMETICOS	15
1.7	DELINEADOR DE OJOS	17
1.7.1	Componentes de los delineadores	17
1.7.2	Alteraciones oculares por uso de delineador	18
1.8	ESTABILIDAD DE PRODUCTOS COSMETICOS	20
1.8.1	Pruebas Fisicoquímicas	20
1.8.2	Pruebas Microbiológicas	21
1.8.2.1	Microorganismos causantes de la contaminación microbiana	23
1.8.2.2	Pruebas de recuento microbiológico	23
1.8.2.3	Pruebas de ausencia o presencia de microorganismos específicos	24
1.8.3	Preparación de la muestra	26
1.8.3.1	Productos solubles en agua	26
1.9	DETERIORO MICROBIANO	27
1.9.1	Fuentes de contaminación	27
1.10	PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS EN PRODUCTO	28
1.10.1	Cantidad utilizada para la prueba	28
1.10.2	Examen del producto	28
1.10.2.1	Metodo de filtración por membrana	28

1.10.2.2	Metodo de recuento en placa	29
1.10.2.3	Metodo de extensión en superficie	29
1.10.3	Presencia o ausencia de Microorganismos Específicos	30
1.10.3.1	<i>Escherichia coli</i>	30
1.10.3.2	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	30
1.10.3.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	31

### **CAPITULO III: DISEÑO METODOLOGICO**

1.	ESQUEMA DEL DISEÑO METODOLOGICO	32
1.1	TIPO DE INVESTIGACION	32
1.1.1	Lugar de estudio	32
1.1.2	Unidades de análisis	33
1.1.3	Selección de la muestras	34
1.1.4	Criterios de exclusión	34
1.1.5	Fuente de obtención de datos	34
1.2	MATERIALES	35
1.2.1	Materiales documentales	35
1.2.2	Materiales y equipos instrumentales	35
1.2.3	Medios de Cultivo	35
2.	METODOLOGIA PARA LA REVISION Y VERIFICACION DE UN DETERIORO MICROBIANO	36
3.	METODOLOGIA DE LAS PRUEBAS MICROBIOLOGICAS	37
3.1	Selección de los medios de cultivo	38
3.2	Criterios de aceptación de resultados microbiológicos	40

3.3	Interpretación de Resultados	41
-----	------------------------------	----

#### **CAPITULO IV: INVESTIGACION APLICADA**

1	DESARROLLO DE LA INVESTIGACION METODOLOGICA APLICADA	43
1.1	ESQUEMA DE LA INVESTIGACION APLICADA	43
1.2	SELECCION Y ADQUISICION DE MUESTRAS DE PRODUCTO	43
1.3	VERIFICACION Y REGISTRO DE INFORMACION DE LAS MUESTRAS	44
1.4	REVISION Y VERIFICACION DEL DETERIORO MICROBIANO	46
1.5	TOMA DE MUESTRA DE LOS PRODUCTOS ADQUIRIDOS	48
1.6	PROTOCOLO DEL DESARROLLO DE PRUEBAS MICROBIOLOGICAS	49
1.6.1	Preparación de los medios de cultivo	51
1.6.2	Preparación de la muestra.	52
1.7	ESQUEMA DE LA SIEMBRA DEL PRODUCTO	53
1.7.1	Siembra de muestras en medios de cultivo	54
1.7.2	Incubación de placas	56
1.7.3	Lectura de las placas incubadas	57
1.8	PRESENTACION DE RESULTADOS OBTENIDOS POR MUESTRA ANALIZADA	60

#### **CAPITULO V**

1.	CONCLUSIONES	68
----	--------------	----

2.	RECOMENDACIONES	70
3.	BIBLIOGRAFIA	71

## ÍNDICE DE ESQUEMAS

		<b>Página</b>
ESQUEMA N° 1	Metodología del Proyecto de grado	8
ESQUEMA N° 2	Diseño Metodológico	32
ESQUEMA N° 3	Investigación Aplicada	43
ESQUEMA N° 4	Siembra de Producto en Medios de Cultivo	54

## ÍNDICE DE TABLAS

		<b>Página</b>
TABLA N°1	Parámetros y Criterios de Aceptación del Deterioro Microbiano	37
TABLA N°2	Pruebas microbiológicas generales	38
TABLA N°3	Selección de medios de cultivo para Microorganismos específicos	39
TABLA N°4	Límites de aceptación microbiológica	41
TABLA N°5	Registro de información y revisión de las muestras	44
	Continuación tabla 5	45
TABLA N°6	Resultado de la verificación del deterioro Microbiano	48
TABLA N°7	Cantidad de muestra para análisis	49
TABLA N°8	Cumplimiento a las actividades preliminares	50
TABLA N°9	Resultados muestra N°1	61
TABLA N°10	Resultados muestra N°2	62
TABLA N°11	Resultados muestra N°3	63
TABLA N°12	Resultados muestra N°4	64
TABLA N°13	Resultados muestra N°5	65
TABLA N°14	Resultados muestra N°6	66
TABLA N° 15	Resultados muestra N°7	67

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

		<b>Página</b>
Ilustración N° 1	Cosméticos Decorativos	12
Ilustración N° 2	Delineador liquido	17
Ilustración N° 3	Infecciones oculares	18
Ilustración N° 4	Alteraciones oculares por uso de cosméticos	20
Ilustración N° 5	Recuento aerobios totales	23
Ilustración N° 6	Recuento de Hongos y Levaduras	24
Ilustración N° 7	<i>Staphylococcus aureus</i>	25
Ilustración N° 8	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	25
Ilustración N° 9	<i>Escherichia coli</i>	26
Ilustración N° 10	Ubicación de la zona comercial “Uyustus”1	33
Ilustración N° 11	Vista aérea de la zona comercial “Uyustus”1	33
Ilustración N° 12	Muestras obtenidas de delineadores líquidos	46
Ilustración N° 13	Inspección visual de muestras	47
Ilustración N° 14	Medios de cultivo dispensados en capas Petri	52
Ilustración N° 15	Preparación y numeración de las Muestras	53
Ilustración N° 16	Siembra de las muestras en las cajas Petri	55
Ilustración N° 17	Medios de cultivo con siembra de cada muestra	56
Ilustración N° 18	Incubación de placas	56
Ilustración N° 19	Lectura de placas sembradas sin desarrollo de colonias	57
Ilustración N° 20	Lectura de placas sembradas con desarrollo de colonias	58
Ilustración N° 21	Siembra en medios de cultivo Específicos	59

## **ANEXOS**

Anexo N° 1	Tabla de la Evaluación inicial de posible deterioro microbiano.	A1
Anexo N° 2	Cumplimiento a las actividades preliminares.	A2
Anexo N° 3	Medios de Cultivo. Indicaciones de preparación.	A3
Anexo N° 4	Registro de lectura de los medios de cultivo.	A4



## CAPITULO I

### 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad se puede percibir que existe gran interés y aceptación por los consumidores por los temas relacionados con la calidad, la seguridad y el control microbiológico de los productos cosméticos, tomando en cuenta que estos, son de uso diario. El uso de cosméticos entre los que se encuentra el “delineador de ojos”, se remonta a culturas prehistóricas donde la utilización del barro y tintes naturales aplicados con una especie de pincel al rostro era lo más común, hasta encontrarnos hoy en día con diferentes instrumentos, diferentes tintes y materiales sintéticos, que debido al progreso tecnológico de nuestra época donde la evolución de la fabricación así como de su mejor control por el avance en los conocimientos científicos, el uso de los delineadores se ha convertido en una parte importante para resaltar la belleza de las personas que lo utilizan.

La administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos FDA(Food and Drug Administration), tiene como principal objetivo “*proteger la salud pública mediante la regulación de los medicamentos de uso humano (...), dispositivos médicos, los cosméticos, los suplementos dietéticos y los productos que emiten radiaciones*” y define a los cosméticos como “*sustancia destinada a ser aplicada al cuerpo humano para limpiar, embellecer o alterar la apariencia sin afectar la estructura del cuerpo o funciones*”[26], es por lo cual los delineadores de ojos tienen la función de embellecer y adornar el área de los ojos. Su producción se realiza en laboratorios o áreas independientes y separadas de diferentes recintos o ambientes, por lo que existen normas de buenas prácticas de cosméticos que controla la fabricación, la calidad de insumos y materiales, las materias primas, el proceso productivo de fabricación, así como el producto terminado, todo esto con el fin de proteger al consumidor de cualquier efecto no deseado.

En Bolivia la industria cosmética se encuentra reducida en relación a la cantidad de otras industrias productoras en el país [44], ninguna de ellas fabrica delineadores de ojos, sean estos en presentación líquida, lápiz, pinceles u otros. Todos los productos existentes en el mercado cosmético nacional, vienen por importación de la manufactura extranjera; muchos de ellos fabricados por industrias farmacéuticas en su rama cosmética, otros por empresas especializadas en la industria cosmética y algunos que ingresan al mercado de manera informal de los cuales se desconoce su procedencia o método de fabricación. Los productos de este último tipo tienen una aceptación importante para el consumidor debido a que, para la adquisición de un cosmético, priman criterios de moda y costo principalmente. Sin embargo, para los profesionales que cuidan de la salud estos criterios son indiferentes primando el proceso de fabricación como el de sus controles fisicoquímicos y microbiológicos en origen, poniendo en duda que los productos tengan o no, los controles indispensables, ya que no cuentan con registros y certificaciones de respaldo.

El maquillaje indudablemente tiene el objeto de mejorar la apariencia del rostro y llamar severamente la atención, pero el uso permanente puede también tener consecuencias y riesgos de contaminación, específicamente en el caso de los delineadores el elemento más sensible que se ve involucrado son los ojos. Según un estudio realizado por la Fundación Remetería de España *“una de cada cuatro mujeres reconoce haber sufrido algún problema en los ojos a causa del maquillaje”* [15]. Donde se pudo observar que el maquillaje puede tener consecuencias a largo plazo sobre los ojos, e identificaron que estos problemas pueden ser: conjuntivitis, escozor o irritaciones. De un total de 100 mujeres, todas indicaron que cuando se habían maquillado alrededor de los ojos, presentaban restos de maquillaje en la película lagrimal, esta presencia está relacionada con una deterioración de la visión y según el doctor Javier Hurtado, director médico de la Fundación y autor de la investigación, indica que *“el uso del maquillaje durante toda la vida puede tener consecuencias a largo plazo en el ojo, sobre todo en un ojo más sensible”*[1].

Sobre el tema se desconoce de estudios similares en nuestro país, donde según declaraciones emitidas a la prensa en el periódico de La Razón por la Dra. Toledo, jefa de la unidad de medicamentos UNIMED en Bolivia *“Existen 160 importadoras y comercializadoras autorizadas para traer del exterior productos cosméticos y/o perfumería, que están reguladas por las Decisiones 516 y 705 de la Comunidad Andina (CAN)”*[23] que hoy en día es un número significativo y por lo mencionado, resulta útil poder demostrar con la presente investigación, la calidad microbiológica de los delineadores de ojos, considerando su segmentación del mercado y la oferta del mismo a los consumidores.

La comercialización y venta de cosméticos y en particular de los delineadores de ojos es muy variada, conociéndose de forma popular los siguientes tipos:

- Empresas importadoras que tienen puestos de venta propia y canales de distribución como galerías, bazares, supermercados.
- Ventas directas, conocidas como las ventas personales puerta a puerta con la demostración del producto y la presentación del catálogo para su elección según la variedad.
- Ventas online, que permite comprar el producto por internet desde cualquier ciudad de Bolivia.
- Ventas callejeras, en el mercado negro o informal.

En todos los casos cualquier ciudadano común e interesado en la adquisición de cosméticos, desconoce, en su mayoría de las veces, que un cosmético antes de su venta debe tener una NSO “Notificación Sanitaria Obligatoria” que identifique que el producto a ser adquirido, cumple con reglamentaciones de venta en el país; es frecuente que la mayoría de las veces, no verifique el número de permiso NSO del producto, si como desconocer que este número es la autorización y control que ejerce el Ministerio de

Salud sobre los productos que son fabricados, importados o envasados u comercializados en el país, que son de interés sanitario previa verificación de los requisitos establecidos en el marco legal correspondiente. Por lo tanto, este desconocimiento provoca que no sea objetado ni cuestionando la verdadera calidad del mismo, dando como implícito que el producto adquirido cuenta con el respectivo control microbiológico que demuestre su calidad.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En la actualidad, el delineado de ojos es una práctica muy general y común, donde especialmente las mujeres, consideran que ésta acción mejora su apariencia y que es imprescindible para conseguir una mirada perfecta que adorne el rostro y afiance su seguridad personal. Este acto depende de la cultura, la moda, de cómo se interpreta los rasgos de belleza, pero por la frecuencia de su uso, escasamente se conoce cómo estos pueden afectar a la salud de los usuarios, tomando en cuenta que es posible o no, que algunos delineadores contengan compuestos como metales pesados o cargas microbiológicas elevadas, que pueden ser nocivos para la salud.

El utilizar maquillaje alrededor de los ojos y emplear productos tales como el rímel, la sombra o el lápiz de ojos pueden tener consecuencias fatales para la visión de quienes lo usan [Dr. Javier Hurtado]. Ocho de cada diez mujeres que fueron entrevistadas para realizar este estudio reconocieron maquillar sus ojos más de tres veces por semana y sufrir molestias leves. El estudio dio como resultado que las mayores afecciones son “problemas oculares como irritaciones, molestias, conjuntivitis, intolerancia, enrojecimiento, sensibilidad, infecciones y cicatrices en la córnea” [17].

El prurito, escozor o irritación ocular, la conjuntivitis y la blefaritis (inflamación de los párpados) son las consecuencias más directas de una aplicación incorrecta de los productos de maquillaje en los ojos. *“El exceso de maquillaje no sólo produce efectos*

*molestos o incómodos, sino también infecciones que pueden resultar crónicas” [22]. Además de estas infecciones, la utilización de cosméticos inadecuados o agresivos puede provocar la aparición de orzuelos, enrojecimiento ocular o lagrimeo. El uso constante, puede dejar restos de sus componentes en la película lagrimal, obstaculizando el conducto lagrimal, ocasionando posibles infecciones oculares no detectadas ni tratadas si el producto estuviera contaminado.*

Por todo lo expuesto, se considera importante llevar a cabo una investigación analítica a nivel de laboratorio basada en pruebas microbiológicas, que logre arrojar resultados veraces en cuanto a sus especificaciones microbiológicas conferidas como lo son: el análisis cuantitativo de Recuento de Aeróbicos Totales, Recuento de Hongos y Levaduras, y el análisis cualitativo: Ausencia o Presencia de microorganismos específicos como es el caso de *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, y *Staphylococcus aureus*.

### **3. PREGUNTA DE LA INVESTIGACIÓN**

¿Los delineadores líquidos comercializados en la zona “Uyustus” de la ciudad de La Paz, cumplen con la calidad microbiológica exigida por la norma de Buenas Prácticas de Manufactura cosmética?

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1. OBJETIVO GENERAL**

Comprobar si los delineadores líquidos para los ojos comercializados en la Zona “Uyustus” de la ciudad de La Paz cumplen con las especificaciones microbiológicas exigidas en las Normas vigente en Bolivia para Cosméticos.

## **4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Verificar presencia o ausencia inicial, de deterioro microbiano.
- Comprobar si los delineadores líquidos cumplen con el estándar de calidad microbiológico para recuento de aeróbicos totales.
- Comprobar si los delineadores líquidos cumplen con el estándar de calidad microbiológico para recuento de hongos y levaduras.
- Determinar la ausencia de microorganismos específicos:
  - *Escherichia coli*
  - *Pseudomona aeruginosa*
  - *Staphylococcus aureus*
- Del muestreo realizado, determinar qué porcentaje de los delineadores líquidos que fueron utilizados para ese proyecto cumplen con los estándares microbiológicos de calidad.

## **5. JUSTIFICACIÓN**

### **5.1. JUSTIFICACION ACADÉMICA**

Aplicar los conocimientos adquiridos durante la Especialidad en Tecnología cosmética, específicamente en el módulo de control de calidad ya que este se enfoca en los análisis microbiológicos y su relación con las enfermedades asociadas a estos con el fin de cumplir con los aspectos de calidad establecidos en las normas vigentes. Por lo que el presente trabajo de investigación, toma como punto de partida la normativa local para el área de Cosméticos: Manual para notificación sanitaria obligatoria de cosméticos de Bolivia.

### **5.2. JUSTIFICACIÓN TÉCNICA**

Al ser la cosmética, una de las mayores oportunidades de mercado rentable y seguro y al no tener barreras que impida su comercialización en Bolivia, el acceso que

tienen varios países vecinos así como países lejanos es viable lo que permite que este tema técnico de una comercialización basada en la calidad mediante la implementación de las buenas prácticas de manufactura cosmética y el cumplimiento a regulaciones vigentes nacionales, serian útiles para que la salud de los consumidores no se vea afectada.

### **5.3. JUSTIFICACIÓN SOCIAL**

Debido a que el uso de cosméticos es muy común entre la población paceña, y siendo que una parte de la población lo adquiere en lugares informales (mercados), es importante corroborar si estos cumplen con la calidad microbiológica, pudiendo ser el primer paso para una investigación futura, donde se relaciona el cumplimiento a la calidad microbiológica o no, con posibles enfermedades oculares.

## **6. METODOLÓGIA DE INVESTIGACIÓN DEL TRABAJO DE GRADO**

Para Mario Tamayo y Tamayo, 1999. Las características de la investigación científica son las que escogen conocimientos o datos de fuentes primarias y los sistematizan para el logro de nuevos conocimientos. Dado a esto se aplicará la estructura de metodología de investigación que se basa en la utilización de información o datos existentes y aplicarlos para el diseño y creación de nueva información, nuevos datos, nuevas soluciones. [24]

La metodología de investigación contempla que el control de calidad que se aplica en el punto específico del proceso es un método observativo cualitativo, en el cual se observa el producto y se determina si las cualidades cumplen con la calidad establecida.

Por lo cual el presente trabajo de grado contempla el siguiente esquema como principal para su desarrollo.

### Esquema N° 1: Metodología del proyecto de grado



Fuente: Elaboración propia. 18 de febrero, 2018

Así mismo se puede observar que este esquema indica la jerarquía de tiempo en el que se desarrollarán las actividades, siendo que consecuentemente las actividades se irán realizando en fin de llegar al resultado para identificar su conclusión.



## CAPITULO II: MARCO TEORICO

### 1. ANALISIS DEL OBJETO DE ESTUDIO

El uso del maquillaje y el significado que se ha atribuido con el paso del tiempo a esta práctica se refiere específicamente a la relación que se tiene entre el maquillaje o estética del rostro y cuerpo de la mujer con lo que determina la apariencia y la identidad de la persona ante la sociedad. Esta identidad, que va cambiando a través del tiempo, se ve reflejada no solo en sus acciones sino también en la forma que adorna su rostro por medio del maquillaje, con el objetivo principal de modificar y resaltar la belleza y la expresión facial o en otros casos de ocultar o disimular ciertas imperfecciones naturales.

Los cosméticos se han convertido desde hace muchas décadas en una parte imprescindible del arreglo personal, no sólo desde el punto de vista estético sino también desde el punto de vista higiénico.

El periódico La Razón en su edición impresa de La Paz, del 24 de agosto de 2014, comunica lo siguiente con respecto a la industria cosmética “... *Año que pasa el negocio de la belleza mueve sumas millonarias en Bolivia. En el último quinquenio (2009-2013) la importación de cosméticos y perfumería creció en 86%. El año 2013 las compras sumaron \$us 138 millones, una de las más altas.*” [23]. Así mismo dicha publicación añade que, “*Como muestra de este crecimiento, un estudio realizado por el Consejo de Asociaciones de la Industria de Cosméticos Latinoamericana (Casic) daba cuenta de que Bolivia ocupa el puesto 13 en el mercado de cosméticos en Latinoamérica. De acuerdo con el informe, cada habitante en el país tiene un consumo de \$us 32,2 al año. La información da cuenta de que Bolivia importa más productos de belleza de Perú, Argentina, México y Colombia. En total se importaron 37 variedades de productos de tocador para hombres y mujeres de 51 países.*” [23] y con la

globalización, los cosméticos provenientes de Asia y África tienen un porcentaje considerable en el mercado nacional, por lo que la calidad de dichos productos, es importante que respondan a los estándares internacionales de calidad.

## **1.1. EVALUACION**

En términos generales, se entiende por evaluación el proceso por el cual se intenta obtener un juicio de valor o una apreciación de las cualidades de un objeto, de una actividad, de un proceso o de sus resultados. Este proceso pone de relieve las cualidades, ventajas y debilidades de aquello que se evalúa. La evaluación permite obtener información fiable para la toma de decisiones, en cualquier punto de algún proceso o tarea, y esto aplica también a cualquier ocasión en la cual se encuentre una serie de opciones o de parámetros a controlar.

Dada la descripción de Evaluación se tiene un punto o acción que es el proceso de Evaluación, por lo cual se debe tomar en cuenta que, “El proceso de evaluación requiere como punto de partida, plantearse cuales son los fines reales que se persiguen. Para evaluar es necesario disponer de un referente con el que comparar. La evaluación se suele basar en la toma de datos sobre los resultados obtenidos, que permitan llegar a conclusiones que redunden en la mejora de un objetivo” [31].

## **1.2. COSMÉTICOS**

### **1.2.1. Definición de cosmético**

Se entenderá por 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 mantenerlos en buen estado y prevenir o corregir los olores corporales [10].

### **1.2.2. Clasificación de los productos cosméticos**

Con la finalidad de mantener el presente proyecto dentro del contexto nacional, se tomará en consideración la lista de clasificación de los productos cosméticos que insta el ministerio de salud y deportes del estado plurinacional de Bolivia, en su Manual Notificación Sanitaria Obligatoria de Cosméticos tras la Decisión No. 516 publicada en la misma que indica la siguiente clasificación en su anexo 1. [3]

#### **Lista Indicativa De Productos Cosméticos**

- Cosméticos para niños.
- Cosméticos para el área de los ojos.
- Cosméticos para la piel.
- Cosméticos para los labios.
- Cosméticos para el aseo e higiene corporal.
- Desodorantes y antitranspirantes.
- Cosméticos capilares.
- Cosméticos para las uñas.
- Cosméticos de perfumería.
- Productos para higiene bucal y dental.
- Productos para y después del afeitado.
- Productos para el bronceado, protección solar y autobronceadores.
- Depilatorios.
- Productos para el blanqueo de la piel.

### **1.3. COSMÉTICOS DECORATIVOS**

Se denominan así porque *“son aquellos cuya función es dar color o modificar el color de la zona corporal en la que van a ser aplicados. Este tipo de preparados está formado por dos componentes esenciales, la parte activa compuesta por pigmentos o colorantes y el vehículo, también conocido como excipiente”* [30]. Además, una de las

características de estos cosméticos es que deben ser dermatológicamente inocuos, cumplir los requisitos de pureza química y presentar el tamaño de partícula adecuado para su incorporación. Los ingredientes activos, excipientes y aditivos utilizados en los productos cosméticos decorativos pueden agruparse en polvos sueltos o compactos, suspensiones, líquidas, pomada, geles y emulsiones.

### **Ilustración N° 1: Cosméticos Decorativos**



Fuente: Poznyakov. (s.a.). *Cosméticos decorativos para el maquillaje. Cuidado, Encanto*. Recuperado el 9 de mayo de 2018. de la página web: Dreamstime.com. [20]

#### **1.4. COSMÉTICOS DECORATIVOS ESPECIFICOS PARA LA REGION DE LOS OJOS**

Desde la antigüedad, esta práctica de decoración de ojos ha sido muy utilizada, en el antiguo Egipto y Mesopotamia fue donde se origina el delineado de ojos, utilizando en ese entonces, como una línea negra alrededor de los ojos, y esto lo hicieron en honor a los gatos, ya que ellos tienen una línea negra muy sofisticada en sus ojos. Posteriormente se comenzó a usarlo en Arabia, donde las mujeres hacían de esta práctica, una reverencia a la belleza femenina; sus cosméticos los formaban en base de mezclas de tierra, cenizas y colorantes. En Grecia y Arabia se utilizaba el kohl en los ojos, que es un cosmético a base de sulfato de plomo (galena molida), delineaban los párpados para dar un aspecto de ojos mucho más grandes. Utilizaban también, una mezcla de carbón, kohl y grasa animal para aplicar en párpados y pestañas con el fin de acentuar la mirada y atraer la atención hacia los ojos. [12] El delineador de ojos se ha vuelto muy popular entre las mujeres, donde el delineado de ojos da como resultado una

mirada más profunda, expresiva y más atractiva. Existe una innumerable cantidad de productos cosméticos con este fin, y delineador de ojos, que se presenta en forma semisólida como lápiz o un gel y en líquido.

## **1.5. COMPONENTES DE LOS COSMÉTICOS**

Los componentes de los cosméticos están clasificados en de manera general en ingredientes activos, excipientes y aditivos.

### **1.5.1. Ingredientes activos**

Sustancias químicas o naturales que tiene una función en la formulación que son los que dan el inicio a la clasificación de los cosméticos como ser: de limpieza, hidratación, correctores, protectores, etc. Es el compuesto que hace posible que puedan realizar la función a la que están destinados. [37]

### **1.5.2. Excipientes y aditivos**

Los excipientes son las sustancias en las que se disuelven o se mezclan los ingredientes activos para conseguir la forma que deseamos con el fin de optimizar su aplicación. Éstos se utilizan para conseguir la forma del cosmético deseado (polvo, crema, gel, líquido, etc.)

El excipiente más utilizado es el agua, debido a su inocuidad y bajo costo, aunque también se puede utilizar disolventes orgánicos como alcohol, propilengicol, glicerina y acetona en caso en que el ingrediente activo no se pudiera disolver en agua. Según las fases que tengan las mezclas, estos podrán ser monofásicos, es decir no se distinguen las sustancias en la mezcla; o polifásicos, los cuales tienen dos o más fases y hay que agitarlos para conseguir la mezcla homogénea.

Los espesantes, como las gomas, las ceras, celulosas, carbopol, se encargan de darle cuerpo al cosmético; las sustancias reguladoras del pH, como el ácido láctico, los cítricos, la Trietanolamina y la Dietanolamina; los secuestrantes de metales, entre los que destacan los quelantes de iones y el EDTA; los humectantes, entre los más comunes son la glicerina Propilenglicol, el sorbitol y la urea; los suavizantes, como las lanolinas, las siliconas y las proteínas hidrolizadas; y los aromatizantes. [37].

Los aditivos, pueden tener diferentes efectos de acuerdo con cada tipo de productos en el que se utilice, así como las propiedades de los ingredientes activos y de los excipientes. Los aditivos más utilizados en los cosméticos se clasifican en:

Emulgentes o tenso-activos, son los que permiten que una formulación pueda contener agua y aceite de forma estable, evitando la separación de los mismos debido a su propia naturaleza que por lo general es difícil de combinar. Los más comunes son los aniónicos, como el alquil-sulfato y el alquil-éter sulfato; los catiónicos, como las sales y amonio que actúan como acondicionadores; los anfóteros, utilizados en cosméticos para personas sensibles; y los no iónicos, como las aminas etoxietiladas, que se usan para estabilizar las espumas.

Los colorantes, que deben tener la propiedad de no teñir la piel, sino solo de hacer más atractivo los productos; pueden ser pigmentos o colorantes de origen natural y artificial, entre los más comunes se pueden encontrar la tartracina (E-102) que da un color amarillo, el azul brillante (E131) y el FD & C BLUE No. 1 (CI 42090). En algunas formulaciones actúan como aditivos y en otras como ingredientes activos. [37].

Los conservantes, que pueden ser antioxidantes, se utilizan siempre que exista algún tipo de grasa en el producto y sirven para evitar el enrarecimiento del cosmético, entre los más comunes está la vitamina C y E, el BHT butil hidroxitolueno y el BHA

butil hidroxianisol. Los antimicrobianos, cuya función es la de prevenir a los productos frente a la contaminación microbiana durante la fabricación, almacenaje y uso cotidiano del consumidor, pero nunca deben utilizarse para destruir los microorganismos de productos cosméticos [37], se incorporan en los cosméticos en muy pequeña concentración (entre un 0,0005 y un 1% de sustancia activa) durante el proceso de fabricación [22]; el NIPAGIN, parahidroxibenzoato de metilo, el NIPASOL, parahidroxibenzoato de propilo, el Cloruro de benzalconio, el triclosán, el methylparaben y el propylparaben, son los más utilizados.

## **1.6. COMPONENTES TÓXICOS DE LOS COSMÉTICOS**

Los cosméticos incorporan dentro de sus fórmulas a los productos químicos los que son utilizados atribuyéndoles una multitud de propiedades. Sin embargo, varios científicos y organizaciones han levantado la voz de alerta sobre el impacto de estos compuestos. Así, según la activista y especialista en químicos Annie Leonard, menos del 20 por ciento de los químicos utilizados en los productos de belleza en Estados Unidos han sido analizados. La Dra. Clark en los “protocolos originales de muwellness.com y según un estudio realizado por el grupo EWG (Environmental Working Group) advierte, que la mayoría de los cosméticos y productos de cuidado personal que se venden en los EEUU, no son controlados por los organismos gubernamentales para que cumplan con todas las normativas de sanidad. Por su parte, el científico y activista David Suzuki ha catalogado dentro de ellos a 12 compuestos químicos como los más peligrosos y son los siguientes: [40]

1. Lauril Sulfato de Sodio. Se utiliza en jabones y champús se sospecha que es cancerígeno.

2. Triclosán. Muy usado en cosméticos por sus propiedades antibacterianas y fungicidas. Se sospecha que interfiere con las funciones hormonales.

3. Formaldehídos. Es la base de lo que se conoce generalmente como formol. Su uso ha sido relacionado por varios estudios con la aparición de cánceres.

4. Parabenos. Se utilizan por su efectividad como conservante y por sus propiedades bactericidas y fungicidas. Hay mucha controversia sobre su uso desde que un estudio encontrara parabenos en un alto porcentaje de mujeres con cáncer de mama.

5. Compuestos de Polietilenglicol (PEG). Son frecuentes en cosméticos en crema por la textura que le aportan. Al igual que el Lauril Sulfato de Sodio, puede contener 1,4-dioxano.

6. Butilhidroxianisol (BHA) y Butilhidroxitolueno (BHT). Son antioxidantes sintéticos. Según la Unión Europea, puede provocar reacciones alérgicas, son posibles cancerígenos.

7. P-fenilendiamina. Se utiliza fundamentalmente en tintes permanentes y también en algunos tipos de maquillaje. Se sospecha que puede causar cáncer.

8. Dietanolamina. Son químicos utilizados para hacer los productos más cremosos o espumosos. La DEA, como se abrevia a menudo en las etiquetas, es un compuesto irritante para la piel y los ojos.

9. Ftalato de Dibutilo. Usado principalmente en productos para uñas y en perfumes. La Unión Europea considera que es un potencial disruptor hormonal.

10. Siloxanos. Se añaden a los cosméticos para hacerlos más cremosos y agradable al tacto. Sus efectos pueden variar, desde afectar a las funciones hormonales en el ser humano a causar infertilidad.

11. Perfumes: Se usan unos 3.000 químicos diferentes como fragancias. Uno de sus principales problemas es que no se especifica el tipo de químico utilizado y muchos de ellos pueden provocar alergias, migrañas o asma.

12. Petrolatum: es un derivado del petróleo. Hay diferentes tipos y algunos de ellos han sido declarados cancerígenos.



Todos los años, el EGW (Environmental Working Group) dirigido por la Dra. VU. Clark, actualiza una base de datos en la que se analizan 7500 marcas de jabones, champús, esmaltes para uñas, tintes de cabello y maquillajes. Dando como resultado que la mayoría de las marcas, contienen ingredientes declaradas en sus etiquetas que pueden dañar el organismo y que no han sido controlados por la FDA. [35]

### **1.7. DELINEADOR DE OJOS**

Un delineador es un cosmético utilizado para definir el contorno de los ojos, resaltar la mirada, y provocar una mirada profunda. Su aplicación en el ser humano es para crear una variedad de ilusiones estéticas, actualmente es utilizado por las mujeres y también por los varones que poco a poco han ido introduciendo este delineado a su forma de vida. Existen en el mercado diferentes presentaciones, como lo son líquidos, gel, crayones, lápices, khol. El delineador líquido, consigue una aplicación más cercana al ojo, por lo que su acabado es mucho más estético. [6]

#### **Ilustración N° 2 Delineador líquido**



Fuente: Vix. (2011). *Como aplicar el delineador líquido*. Recuperado el 14 de mayo de 2018 del sitio web: <https://www.vix.com/es/imj/2011/09/06/como-aplicar-delineador-liquido>. [19]

#### **1.7.1. Componentes de los delineadores**

De manera general, un delineador que se utilice para los ojos puede contener:

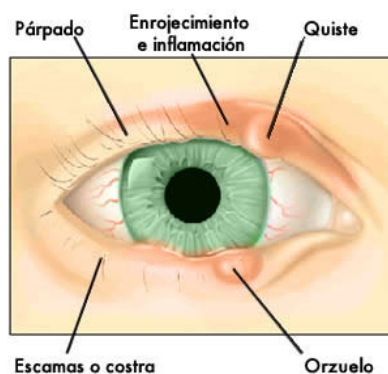
- Sales de plomo
- Óxido nítrico
- Sulfito de plomo
- Copolímero de acrilatos

- Polímero que se utiliza para dar protección a prueba de agua y propiedades espesantes.
- Fenoxietanol, un éter de glicol que se emplea como bactericida
- Parabenos que se usan como aditivo y conservante.
- Solventes como el isododecano, (hidrocarburo utilizado como solvente en productos para la piel y soluble con siliconas)
- Pigmentos, polímeros fijadores, hexamidina (conservante incoloro, con propiedades bacteriostáticas, bactericidas, fungistáticas y cicatrizantes) [24]

### 1.7.2. Alteraciones oculares por uso de delineador

El delineador utilizado por dentro de las pestañas tiene mayores riesgos a ocasionar conjuntivitis, intolerancia a los lentes de contacto, enrojecimiento, sensibilidad, infecciones y cicatrices en la córnea. El maquillaje para ojos, es aún más lesivo en quienes usan lentes de contacto, ya que agrava los riesgos asociados a las mismas, como ojo seco e irritación, pero también infecciones como la Blefaritis. La consecuencia más leve son molestias e intolerancia a los lentes de contacto, pero lo más grave es que favorecen las infecciones y en los portadores de lentes de contacto son mucho más graves. [24]

#### Ilustración N° 3: Infecciones oculares



Fuente: Giner Gabriel (2016). *Enfermedades oculares por cosméticos, Blefaritis*. Recuperado el 20 de abril, 2018, de la página web: [www.esalud.com/blefaritis/](http://www.esalud.com/blefaritis/) [18]

La conjuntivitis bacteriana aguda es el tipo más común de conjuntivitis bacteriana que se produce en los entornos de atención médica ambulatorios. Las bacterias que más frecuentemente causan conjuntivitis bacteriana

*Staphylococcus aureus*

*Haemophilus influenzae*

*Streptococcus pneumoniae*

La conjuntivitis bacteriana puede transmitirse de persona a persona, o mediante el contacto del ojo con manos u objetos contaminados como son los cosméticos destinados al área de los ojos. Asimismo, cuando se producen cambios en las bacterias que normalmente viven en la conjuntiva, esto también puede causar conjuntivitis.

La conjuntivitis alérgica es común en las personas que tienen otros signos de enfermedad alérgica, como fiebre del heno, asma y eccema. Es causada por la reacción del cuerpo a ciertas sustancias a las que es alérgico, como por ejemplo: polen de árboles, plantas, pastos y malezas, ácaros del polvo, caspa de los animales, hongos, lentes de contacto, cosméticos. [41]

La blefaritis es una inflamación frecuente y permanente que afecta al borde palpebral, principalmente a los folículos de las pestañas y a las glándulas de que se localizan entre ellos. La razón por la que se produce la blefaritis es porque la zona del borde palpebral está cubierto un gran número de bacterias (*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*), así también la obstrucción de las glándulas de Meibomio que drenan la grasa y forma parte de la película lagrimal, convierten la zona de las pestañas y párpados en óptima para que dichas bacterias proliferen más lo normal. [34]

#### **Ilustración N° 4: Alteraciones oculares por uso de cosméticos**



Fuente: Giner Gabriel (2016). *Enfermedades oculares por cosméticos, Blefaritis*. Recuperado el 20 de abril 2018 de la página web: [www.esalud.com/blefaritis/](http://www.esalud.com/blefaritis/)[18]

### **1.8. ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS COSMÉTICOS**

Los estudios de estabilidad de los productos cosméticos no miden la degradación de un ingrediente activo, salvo el caso de los productos que contienen factor de protección solar, para los cuales dicho factor es dependiente de la concentración de los ingredientes activos. Entonces la vigencia y seguridad del producto cosmético, se tiene como el tiempo máximo en el cual el producto mantiene sus características físicas, funcionales y de seguridad. Los dos ensayos de calidad importantes para determinar la estabilidad de un cosmético son el fisicoquímico y el microbiológico. [5]

#### **1.8.1. Pruebas fisicoquímicas**

Son ensayos técnicos para la determinación de una o más características de un producto, de acuerdo con un procedimiento en específico. Los análisis básicos como son los organolépticos, son realizados en todos los cosméticos, donde se observa cualitativamente, el color, olor, sabor, aspecto. Para la medición cuantitativa, generalmente es necesario contar con ayuda de equipos adecuados y calibrados de acuerdo a un programa establecido. Los métodos más comunes son:

- Determinación del pH, que es el logaritmo negativo en base 10, de la concentración de iones de hidrogeno. En pH de una disolución neutra es de 7.00. Todos los cosméticos deberían estar cerca de un pH neutro, por lo que los delineadores deben tener un pH cerca del pH del ojo que es de promedio 7,3
- La viscosidad: es una medida de la resistencia al flujo, y la tensión superficial, una medida de la resistencia que un líquido opone a cualquier aumento en su área superficial. La unidad común de la viscosidad es el poise, es común dar las viscosidades en centipoises (cP), que equivalen a 0.01 poise (P).
- Tamaño de partícula: los límites especificados pueden influenciar en apariencia, rendimiento y color del producto, es importante determinar el tamaño de partícula, por medio del Tamizado: utilizando tamices con mallas estandarizadas para especificar el tamaño de partícula. Análisis por Difracción láser: se utiliza para evaluar tamaños de partículas muy reducidos. La técnica de observación directa: abarca la microscopia óptica, y la microscopia electrónica y permite la visualización directa de las partículas y su medición.

### **1.8.2. Pruebas Microbiológicas**

Con el sentimiento de unificar conceptos de forma armonizada, la Comunidad Andina de Naciones (CAN) estandariza los parámetros respecto al límite microbiológico en la Resolución 1482 del 2012. Estas medidas generan atención a las acciones de control y vigilancia para los productos fabricados y comercializados, permitiendo cumplir las especificaciones técnicas de la Notificación Sanitaria Obligatoria (NSO).

El agua es el factor más importante que controla la velocidad del crecimiento de un microorganismo. El metabolismo y la reproducción de los microorganismos demandan la presencia de agua disponible en la formulación, la mayoría utiliza agua disponible del producto y esta corresponde a la actividad de agua. [21]

El crecimiento microbiano en las formas cosméticas, alteran fisicoquímicamente el producto, la presencia de microorganismos en ellos puede producir cambios en el aspecto físico como: color, olor y textura y puede representar un riesgo para la salud del consumidor, exponiéndose a posibles infecciones en el área de aplicación donde se aplique el producto. La mayoría de los productos cosméticos necesitan conservantes que eviten que los microorganismos proliferen en ellos. Estas son las principales características que debe tener un conservador:

- Debe ser de amplio espectro (actividad contra hongos, levaduras, bacterias Gram positivas y Gram negativos).
- Considerar solubilidad en agua y aceite
- Temperatura de adición
- Espectro de acción
- Eficiente a bajas concentraciones
- Debe ser estable
- Debe ser incoloro e inodoro
- Tener un rango de pH amplio
- Compatible con la formulación y con todos los ingredientes que la forman
- Toxicidad
- Porcentaje de uso.

En relación al costo-beneficio, es necesario evaluar la efectividad de los conservadores en el producto. Para ello se recomienda realizar dichos ensayos según la Farmacopea Americana USP. La efectividad de los conservadores se evalúa inoculando el producto con un microorganismo o según la técnica utilizada. [25]

### 1.8.2.1. Microorganismos causantes de la contaminación microbiana

Las principales causantes de contaminación microbiana de productos cosméticos son por la presencia de los siguientes microorganismos:

- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*
- Hongos filamentosos

### 1.8.2.2. Pruebas de recuento microbiológico

Las pruebas de recuento microbiológico recomendadas para verificar contaminación microbiana, son:

- Recuento Aerobios Totales:

Donde se siembra la muestra en placa con un medio de cultivo Soya Caseína y se determina el recuento total de bacterias aerobias presentes luego de 48 horas de cultivo a 32,5°C.

#### Ilustración N° 5: Recuento Aerobios Totales



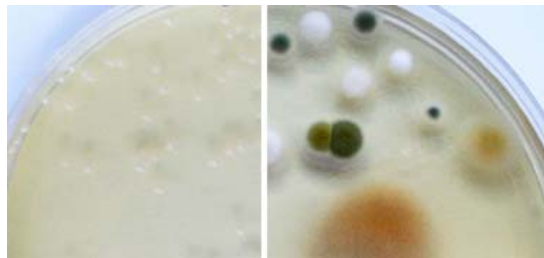
Fuente; Medios de cultivo. *Recuento total con colonias hemisféricas*. Recuperado el 18 de abril de 2018, de la página web:  
<http://www.medioscultivo.com/plate-count-agar-pca/>

La presencia de microorganismos totales, en los ojos ocasiona desde simples alergias hasta enfermedades como la conjuntivitis, blefaritis tal como se mencionó en el punto 1.7.2.

- Recuento de Hongos y Levaduras:

Donde se siembra la muestra en placa con medio de cultivo Sabourand dextrosa y se determina el recuento total de hongos y levaduras, luego de 3 a 5 días de cultivo a 22,5°C.

#### **Ilustración N° 6: Recuento de Hongos y Levaduras**



Levaduras

Hongos

Fuente: *Recuento de hongos y levaduras*. Recuperado el 18 de abril de 2018, de la página web: [http://coli.usal.es/web/demo\\_alteracion/RtoHongosLev/RtoHongosLev.html](http://coli.usal.es/web/demo_alteracion/RtoHongosLev/RtoHongosLev.html)

#### **1.8.2.3. Pruebas de ausencia o presencia de microorganismos específicos.**

Las pruebas de este tipo de mayor significancia para presente trabajo de grado son donde se determina la presencia o ausencia de:

- *Staphylococcus aureus*

Es una bacteria anaerobia facultativa, gram positiva, productora de coagulasa, catalasa que se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, estimándose que una de cada tres personas, se halla colonizada pero no infectada por ella. Es resistente al ambiente seco. Su presencia en los ojos provoca conjuntivitis microbiana. [14]



**Ilustración N° 7: *Staphylococcus aureus***



Fuente: European Pharmaceutical Review (s.a.). *Eczema wounds diseased by S. aureus contamination* Recuperado el 20 de abril, 2018 de la página web: [europeanpharmaceuticalreview.com](http://europeanpharmaceuticalreview.com)

- *Pseudomonas aeruginosa*

Es un bacilo Gram negativo, que se encuentra en el medio ambiente y sobrevive en ambientes húmedos (bañeras, soluciones para lentes de contacto, equipos respiratorios, etc.) rara vez forma parte de la flora normal de los seres humanos sanos. Su presencia en centros hospitalarios es frecuente, y es causante de enfermedades oculares. [29].

**Ilustración N° 8: *Pseudomona aeruginosa***



Fuente: Delisle Gloria Microbe Library,ASM (s.a.). *Small Things Considered; Pseudomonas aeruginosa: Versatile Pathogen.* Recuperado el 20 de abril 2018, de la página web: <http://schaechter.asmblog.org>

- *Escherichia coli*

La *Escherichia coli* (*E. coli*) es una bacteria que se encuentra normalmente en el intestino del ser humano y de otros animales. Aunque no parece que su presencia tenga una función especialmente relevante, se ha descrito que la bacteria *E. coli* favorece la absorción de algunas vitaminas, especialmente la vitamina K. [4] En el presente estudio si bien su presencia no está directamente relacionada con el área de los ojos, la contaminación indirecta, como ser por medio de las manos, o contacto con áreas o productos infectados, provoca las infecciones microbianas en los ojos.

**Ilustración N° 9: *Escherichia coli***



Fuente: Agencia EFE Salud (s.a.). *Que es la Escherichia coli (E.coli) y como se contagia?*. Recuperado el 20 de abril, 2018 de la página web. [www.efesalud.com](http://www.efesalud.com)

### **1.8.3. Preparación de la muestra**

El método para preparar la muestra depende de las características físicas del producto a examinar. Si ninguno de los procedimientos que se describen a continuación resultara satisfactorio, se debe desarrollar un procedimiento alternativo adecuado. [32]

#### **1.8.3.1. Productos solubles en agua**

Disolver o diluir (por lo general se prepara una dilución 1 en 10) del producto a examinar en Solución Amortiguada de Cloruro de Sodio-Peptona de pH 7,0, en Solución Amortiguadora de Fosfato de pH 7,2 o en Caldo Digerido de Caseína y Soya o Agua

purificada. Si fuera necesario, ajustar a un pH de 6 a 8. Preparar diluciones adicionales, con el mismo diluyente, si fuera necesario.

## **1.9. DETERIORO MICROBIANO**

Los cosméticos al igual que los medicamentos o alimentos, pueden permitir la multiplicación de los microorganismos y este crecimiento puede causar el deterioro del producto. Normalmente los signos visibles de deterioro microbiológico requieren altos niveles de contaminación o una intensa multiplicación de los microorganismos, sin embargo, se pueden encontrar productos contaminados que no muestran ninguna evidencia de deterioro. Entre los principales cambios visuales que puede presentar un producto como consecuencia del crecimiento microbiano se encuentran [15]:

- Evidencia directa del crecimiento microbiano.
- Cambio de color.
- Deformación del envase.
- Producción de malos olores.
- Separación de fases en las emulsiones.
- Sedimentación de los materiales suspendidos.
- Disminución de la viscosidad.

### **1.9.1. Fuentes de contaminación**

Los microorganismos que contaminan a los cosméticos pueden llegar al producto durante el proceso de producción a través de los ingredientes activos, excipientes o aditivos; el ambiente de producción, el equipo, el material de empaque y envase y el personal que trabaja directamente en el proceso; una vez que estos productos salen a la venta, el consumidor y el ambiente en el que son utilizados, son otras fuentes de

contaminación que deben ser tomadas en cuenta en el momento en que se formulan estos productos. [15].

## **1.10. PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS EN PRODUCTO**

### **1.10.1. Cantidad utilizada para la prueba**

En la Farmacopea Americana USP 37, indica que: *“A menos que se indique algo diferente, usar 10 g o 10 mL del producto a examinar, tomados con las precauciones mencionadas anteriormente. Se puede reducir la cantidad a analizar de las sustancias activas que se formulan en las siguientes condiciones: la cantidad por unidad es menor o igual a 1 mg o la cantidad por g o mL (para preparaciones que no se presentan en unidades de dosificación) es menor de 1 mg”*. [32]

Escoger la(s) muestra(s) aleatoriamente a partir del material a granel o de los envases disponibles de la preparación. Para obtener la cantidad requerida, mezclar los contenidos de un número suficiente de envases para proporcionar la muestra.

### **1.10.2. Examen del producto**

Puede realizarse según las siguientes técnicas descritas en la Farmacopea Americana USP 37.

#### **1.10.2.1. Método de filtración por membrana**

Utilizar un sistema de filtración para la preparación que consiste en tener manifolds, embudos, y base de filtración donde se colocan las membranas. La muestra debe ser transferida en la cantidad adecuada a dos filtros de membrana y filtrar inmediatamente. Para determinar el recuento aerobio total transferir una de las dos membranas a la superficie del Agar Digerido de Caseína y Soya. Para determinar el

recuento de hongos y levaduras), transferir la otra membrana a la superficie del Agar Sabourand Dextrosa.

Incubar la placa de Agar de Soya Caseína a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 3 a 5 días y la placa de Agar Sabourand Dextrosa a una temperatura de 20° a 25° durante un período de 5 a 7 días. Calcular el número de UFC por g o por mL del producto. [32]

#### **1.10.2.2. Métodos de recuento en placa**

Método de Vertido en Placa: Preparar la muestra empleando un método cuya aptitud se haya demostrado. Preparar al menos dos placas de Petri para cada medio por cada nivel de dilución. Incubar las placas de Agar Digerido de Caseína y Soja a una temperatura entre 30° y 35° durante un período de 3 a 5 días y las placas de Agar Sabouraud Dextrosa a una temperatura entre 20° y 25° durante un período de 5 a 7 días.

Para su interpretación, escoger las placas correspondientes a una dilución determinada y que muestren el mayor número de colonias, menor de 250 para el recuento aerobio total y 50 para el recuento de hongos y levaduras. Tomar la media aritmética de los recuentos por medio de cultivo y calcular el número de UFC por g o por mL del producto.

#### **1.10.2.3. Método de extensión en superficie**

Preparar la muestra empleando un método cuya aptitud se haya demostrado. Preparar al menos dos placas de Petri para cada medio y cada nivel de dilución. Para la incubación y cálculo del número de UFC, proceder según se indica en el Método de Vertido en Placa. [32]

### **1.10.3. Presencia o ausencia de Microorganismos Específicos.**

#### **1.10.3.1. *Escherichia coli***

Preparación de la Muestra e Incubación Previa: Preparar una muestra usando una dilución 1 en 10 de no menos de 1 g del producto a analizar según se indica en Examen Microbiológico de Productos No Estériles: Pruebas de Recuento Microbiano (61) y usar 10 ml o la cantidad correspondiente a 1 g o 1 ml, para inocular una cantidad adecuada de Agar de Soya Caseína, mezclar e incubar a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 24 horas.

Selección y Subcultivo: Agitar el recipiente y transferir 1 aza de la muestra de agar Soya Caseína a una placa con agar Mac Conkey, cultivar a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 72 horas.

Para su interpretación, el crecimiento de colonias indica la posible presencia de *E. coli*. Esto se confirma mediante pruebas de identificación. El producto cumple con la prueba si no se desarrollan colonias o si los resultados de las pruebas de identificación son negativos. [32]

#### **1.10.3.2. *Pseudomona aeruginosa***

Preparación de la Muestra e Incubación Previa: Preparar una muestra usando una dilución 1 en 10 de no menos de 1g del producto a analizar según se indica en *Examen Microbiológico de Productos No Estériles: Pruebas de Recuento Microbiano* (61) y usar 10 mL o la cantidad correspondiente a 1 g ó L mL, para inocular una cantidad adecuada de Agar de Soya caseína y mezclar. Incubar a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 24 horas.

Selección y Subcultivo: Subcultivar en una placa de *Agar Cetrimide* e incubar a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 72 horas.

Para su interpretación, el crecimiento de colonias indica la posible presencia de *P. aeruginosa*. Esto se confirma mediante pruebas de identificación. El producto cumple con la prueba si no se desarrollan colonias o si los resultados de las pruebas de identificación confirmatorias son negativos. [32]

#### **1.10.3.3. *Staphylococcus aureus***

Preparación de la Muestra e Incubación Previa: Preparar una muestra usando una dilución 1 en 10 de no menos de 1g del producto a analizar según se indica en *Examen Microbiológico de Productos No Estériles*: Pruebas de Recuento Microbiano (61) y usar 10 ml o la cantidad correspondiente a 1g ó 1ml, para inocular una cantidad adecuada de agar soya caseína y homogenizar.

Selección y Subcultivo: Subcultivar en una placa de Agar Mannitol/ Salado e incubar a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 72 horas.

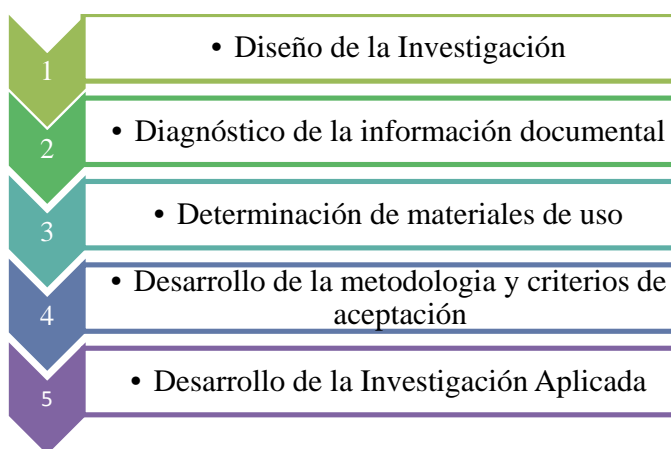
Para su interpretación, el crecimiento de colonias amarillas o blancas rodeadas de una zona amarilla indica la posible presencia de *S. aureus*. Esto se confirma mediante pruebas de identificación. El producto cumple con la prueba si no se desarrollan colonias de los tipos descritos o si los resultados de las pruebas de identificación confirmatorias son negativos. [32]

## CAPITULO III: DISEÑO METODOLOGICO

### 1. ESQUEMA DEL DISEÑO METODOLOGICO

El diseño metodológico a emplearse, seguirá los pasos descritos en el Esquema N° 2.

**Esquema N° 2: Diseño Metodológico**



Fuente: Elaboración Propia. Mayo 2018.

#### 1.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.

El método de estudio del presente trabajo de grado es considerado como descriptivo ya que la información es recolectada sin cambiar el entorno, es decir, no hay manipulación de datos. Es además cuali-cuantitativo y transversal debido a que las variables serán analizadas en un determinado tiempo.

##### 1.1.1. Lugar de estudio

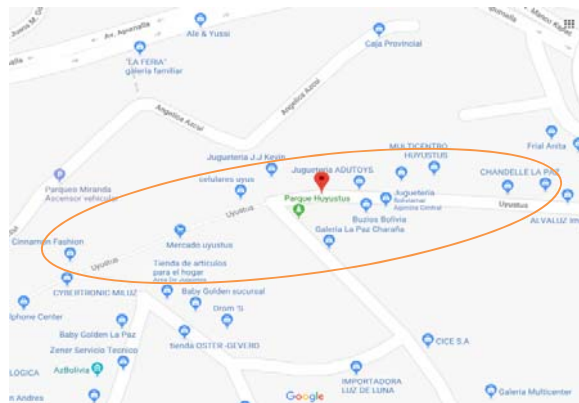
El trabajo de grado será realizado en la ciudad de La Paz – Bolivia, para considerar su entorno ya que el alcance del estudio se ve limitado geográficamente por la zona en la cual se adquieren los objetos a estudiar.



### 1.1.2. Unidades de análisis.

La unidad de análisis a tomar en cuenta para el presente trabajo será: Delineadores de ojos líquidos que se encuentren presentes en el mercado de la zona comercial “Uyustus” tal como lo muestra la ilustración 11 y 12. En esta zona existe un mercado formal como ser tiendas de cosméticos, mercados zonales, venta por catálogos de productos y un mercado informal como puestos de venta callejeros, vendedores ambulantes o similares.

**Ilustración N° 10: Ubicación de la zona comercial “Uyustus”**



Fuente: Google maps. *Ubicación zona comercial Uyustus.*

Recuperado el 20 de diciembre, 2018 de la página <https://www.google.com/maps/@>

**Ilustración N° 11: Vista aérea de la zona comercial “Uyustus”**



Fuente: Google maps. *Ubicación zona comercial Uyustus.*

Recuperado el 20 de diciembre, 2018 de la página <https://www.google.com/maps/>

### **1.1.3. Selección de la muestra.**

La selección de la muestra que se tomara está en base el método de muestreo elegido que es el de “Conveniencia” semi-aleatorio. Este método no probabilístico permitirá seleccionar una muestra con muchísima facilidad, pero tomando en cuenta características importantes de la muestra que se detallada a continuación:

- Tipo de delineador: delineador de ojos líquido.
- Color de delineador: delineador de color Negro o Azul.
- Forma de adquisición: delineador adquirido en el mercado formal e informal de la zona geográfica delimitada “Uyustus”.
- Especificación: delineador con método de aplicación por pincel o pluma.

### **1.1.4. Criterios de exclusión.**

De toda la cartera de oferta que se encuentra en la sección geográfica delimitada “Uyustus” se excluirán aquellos que:

- No cumplan con los criterios de selección de muestra.
- Sean productos fueron elegidos anteriormente en la selección de muestra.
- Sean productos adquiridos en el mismo lugar.

### **1.1.5. Fuentes de obtención de datos.**

Los datos se obtendrán de la inspección visual y pruebas microbiológicas a realizarse en cada una de las muestras obtenidas.

## **1.2. MATERIALES**

### **1.2.1. Materiales documentales:**

- ▲ Marco Normativo basado en el manual para Notificación Sanitaria Obligatoria de Cosméticos emitido por el Ministerio de Salud a través de AGEMED homologado al de la CAN.
- ▲ Norma de Buenas Prácticas de Manufactura cosméticas.
- ▲ Farmacopea Americana USP 37.
- ▲ Técnicas Pruebas Microbiológicas / (61) Examen Microbiológico USP 37

### **1.2.2. Materiales y equipos instrumentales:**

- ▲ Material de vidrio: Cajas Petri, pipetas de 1, 5 y 10 mL, tubos de ensayo, varillas de vidrio.
- ▲ Pinzas, azas bacteriológicas, gradillas, mechero.
- ▲ Estufas de cultivo.
- ▲ Vortex.
- ▲ Agua, Alcohol.
- ▲ Toallas, otros.

### **1.2.3. Medios de Cultivo:**

- ▲ Medio de Cultivo Agar Soya Caseína.
- ▲ Agar Sabourand Dextrosa.
- ▲ Agar Mac Conkey.
- ▲ Agar Cetrimide.
- ▲ Agar Mannitol/salado.

## **2. METODOLOGIA PARA LA REVISION Y VERIFICACION DE UN DETERIORO MICROBIANO.**

Las pruebas de revisión y verificación de un deterioro microbiano, seguirá el siguiente protocolo metodológico, y su aplicación será replicada a cada una de las muestras obtenidas.

De forma inicial se deberá realizar la revisión de las muestras relacionada a:

- ▲ Modo de adquisición del producto
- ▲ Producto con o sin formulación declarada
- ▲ Compuestos tóxicos
- ▲ Producto con o sin empaque final
- ▲ Condiciones de almacenamiento
- ▲ Producto con o sin NSO
- ▲ País de origen

Las muestras adquiridas, serán enumeradas al azar para realizar la verificación de un posible deterioro microbiano siguiendo los parámetros mencionados a continuación:

- ▲ Evidencia visual de crecimiento microbiano.
- ▲ Cambio de color.
- ▲ Deformación del envase.
- ▲ Producción de malos olores.
- ▲ Separación de fases en las emulsiones.
- ▲ Sedimentación de los materiales suspendidos.

Por lo cual para el presente trabajo de grado se aplicarán estos criterios de forma estandarizada en base a la tabla N° 1, en la que se detallan los parámetros para la aceptación de un posible deterioro microbiano de forma inicial, visual, no cuantitativa.

**Tabla N° 1: Parámetros y Criterios de aceptación del Deterioro microbiano**

<b>Parámetros</b>	<b>Criterios de aceptación</b>
Evidencia directa visual de crecimiento microbiano.	No se evidencia turbidez ni se evidencia alteración alguna
Cambio de color.	No presenta decoloración, o cambio en el color inicial
Deformación del envase.	Los envases mantienen su forma inicial.
Producción de malos olores.	No se presenta cambio de olor ni presenta olor de descomposición alguna
Separación de fases en las emulsiones.	No se evidencia separación de fases
Sedimentación de los materiales suspendidos.	No se evidencia sedimentación de componentes de la formula

Fuente: Elaboración propia. Febrero, 2018.

### **3. METODOLOGIA DE LAS PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS.**

Las pruebas microbiológicas seguirán el siguiente protocolo metodológico, y su aplicación será replicado en cada una de las muestras obtenidas.

Primeramente, se verificará antes del ensayo microbiológico lo siguiente:

- ▲ Limpieza y desinfección del área
- ▲ Limpieza y esterilización de equipos y utensilios.
- ▲ Higiene personal, uso de guantes, máscaras y ropa de trabajo adecuada para el área de microbiología.
- ▲ Comportamiento del personal dentro del área.

Después de las verificaciones y preparación de los materiales, se realizará el ensayo de la investigación aplicada. Que básicamente se organiza en:

- ▲ Selección de medios de cultivo.

- ▲ Preparación y siembra de la muestra.
- ▲ Cultivo y lectura de las placas sembradas.

### 3.1. Selección de los medios de cultivo

La selección de los medios de cultivo para la realización del análisis microbiológico, están basadas en las instrucciones brindadas por las normas de BPM para cosméticos específicamente relacionadas con la región a ser utilizada en el cuerpo humano, en este caso el área de los ojos.

La tabla N° 2 muestra la selección de medios de cultivo relacionados a los análisis generales microbiológicos a ser desarrollados en el presente trabajo de investigación.

**Tabla N° 2: Pruebas microbiológicas generales**

<b>PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS GENERALES</b>	<b>MEDIOS DE CULTIVO</b>	
	<b>Agar Soya Caseína</b>	<b>Agar Sabourand Dextrosa</b>
Recuento de aerobios totales.	Medio de cultivo, capaz de evidenciar crecimiento de un amplio tipo de microorganismos.	
Recuento de hongos y levaduras		Medio de cultivo que promueve el desarrollo y aislamiento de hongos y levaduras.
<b>TIEMPO Y TEMPERATURA DE INCUBACION</b>	Incubar a una temperatura de 30 a 35°C, Durante 24 a 72 horas.	Incubar a una temperatura de 20 a 25°C, Durante 48 a 72 horas

Fuente: Elaboración propia. Febrero 2018

Así mismo la tabla N° 2, indica la temperatura y el tiempo de Incubación determinado al que deben ser sometidas las placas para los distintos medios de cultivo para la realización de las pruebas generales.

El monitoreo microbiológico para microorganismos específicos es un proceso cualitativo, porque se verifica la Presencia o Ausencia del microorganismo. El proceso confirmativo de los microorganismos específicos debe realizarse una vez que se verifica crecimiento microbiano en el análisis preliminar realizado en medio de cultivo Agar Soya Caseína y sub-cultivado en los medios específicos tal como lo muestra la tabla N°3

**Tabla N°3 Selección de medios de cultivo para Microorganismos específicos**

<b>PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS PARA MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS</b>		
<i>Escherichia coli</i>	<b>Función del medio de cultivo</b>	<b>Temperatura y tiempo de incubación</b>
<b>Agar Mac Conkey</b>	Medio de cultivo que se usa para promover el desarrollo de todas las especies de la familia Enterobacterias. Promueve el crecimiento de los bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos.	Incubar a una temperatura de 30 a 35°C Durante 18 a 72 horas
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<b>Función del medio de cultivo</b>	<b>Temperatura y tiempo de incubación</b>
<b>Agar Soya Caseína</b>	Medio inicial para fomentar crecimiento de la <i>Pseudomona aeruginosa</i> .	Incubar a una temperatura de 30 a 35°C Durante 24 a 72 horas
<b>Agar Cetrimide</b>	Medio confirmativo para la <i>Pseudomona aeruginosa</i> .	Incubar a una temperatura de 30 a 35°C Durante un período de 18 a 72 horas
<i>Staphilococcus aureus</i>	<b>Función del medio de cultivo</b>	<b>Temperatura y tiempo de incubación</b>
<b>Agar Soya Caseína</b>	Medio inicial para fomentar crecimiento del <i>Staphylococcus aureus</i> .	Incubar a una temperatura de 30 a 35°C, Durante un periodo de 24 a 72 horas
<b>Agar Mannitol/salado</b>	Medio confirmativo para <i>Stsphylococcus aureus</i>	Incubar a una temperatura de 30 a 35°C Durante un período de 18 a 72 horas

Fuente: Elaboración propia. Febrero 2018

La tabla N° 3 nos muestra la selección de medio de cultivo relacionado a los análisis microbiológicos para microorganismos específicos.

La selección inicial del medio de cultivo se realiza eligiendo un medio que tenga los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos, el mismo que está basado en la Farmacopea Americana 37 <61> pag. 65.

El medio de cultivo que promueve el crecimiento de microorganismos presuntivos para el *Staphylococcus aureus*, así como para la *Pseudomonas aeruginosa* es el de Soya Caseína por ser un medio enriquecido.

Si en este medio existiera crecimiento de microorganismos, se realiza un subcultivo de los mismos en medios de cultivo Confirmativos, específico para cada uno de los microorganismos.

- En consecuencia, si hablamos del *Staphylococcus aureus*, se elegirá el Agar Mannitol/Salado.
- Para la *Pseudomonas aeruginosa*, se elegirá el Cetrimide, como medio de cultivo confirmativo.
- Para el microorganismo específico *Escherichia coli*, se utiliza como medio de crecimiento el Mac Conkey.

### **3.2. Criterios de aceptación de resultados microbiológico**

Existe para el punto de contaminaciones microbiológicas, criterios de aceptación que se emite en la Resolución 1482 de la CAN (Comunidad Andina de Naciones), donde los productos cosméticos que se comercialicen en la subregión deberán cumplir los parámetros de control microbiológico señalados en el Cuadro I del Anexo I de la presente Resolución, estos están expresados en la tabla N°4 como los límites de aceptación microbiológica.



**Tabla N°4: Límites de aceptación microbiológica**

Área de Aplicación: Productos para el área de los ojos	
Pruebas microbiológicas	Límite de Aceptabilidad
Recuento de aerobios totales	5 x 10 <sup>2</sup> UFC/ g o mL
Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1g o 1mL	Ausente
Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1g o 1mL	Ausente
Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1g o mL	Ausente
Recuento de Hongos y Levaduras	1 x 10 <sup>3</sup> UFC/ g o mL

Fuente: la Resolución 1482 de la CAN. *Adiciones a la Resolución 797 – Límites de contenido microbiológico de productos cosméticos.*

La tabla 4, presenta los límites de aceptación microbiológica descritos en el documento de la CAN, donde se especifica que pruebas microbiológicas deben ser realizadas y cuáles son los límites de aceptabilidad de los mismos para los productos que son utilizados en el área de los ojos, adicionalmente se encuentra el Recuento de Hongos y Levaduras, que fueron introducidos en esta evaluación para dar mayor control a las muestras.

### 3.3. Interpretación de Resultados

Para poder interpretar los resultados obtenidos, se debe determinar la forma de expresar los resultados.

– Si en la placa no se observa ninguna colonia de microorganismos aeróbicos, hongo o levadura se reportará:

0 UFC/mL de muestra (Recuento de aerobios totales)

0 UFC/mL de muestra (para hongos y levaduras).

– Si se observan crecimiento de colonias de microorganismos aerobios totales, hongos o levaduras que puedan contarse se expresa:

Nº de UFC de colonias microorganismos aerobios totales/ mL de muestra por la dilución de la muestra.

Nº de UFC de hongos y/o levaduras/mL de muestra por la dilución de la muestra.

– Es importante señalar que cualquier crecimiento de microorganismos en el medio de cultivo de Soya caseína, es apto para la determinación de microorganismos específicos, estos deben ser inoculado en los medios selectivos para promover su desarrollo y confirmar su presencia o ausencia de estos microorganismos en el producto muestreado.

– Para los microorganismos específicos se reporta el resultado como:  
Presente o Ausente/ mL.

## CAPITULO IV: INVESTIGACIÓN APLICADA

### 1. DESARROLLO DE LA INVESTIGACION METODOLOGICA APLICADA

#### 1.1. ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN APLICADA

##### Esquema N° 3: Investigación aplicada



Fuente: Elaboración Propia. Mayo, 2018.

#### 1.2. SELECCIÓN Y ADQUISICION DE MUESTRAS DE PRODUCTO

Se adquirieron los siguientes productos en base a los criterios de selección y exclusión mencionados con anterioridad en el capítulo II, punto 2.2:

- ▲ 2 muestras de producto por catálogo.
- ▲ 1 muestra de producto adquirida en el mercado zonal seleccionado.
- ▲ 2 muestra de producto adquirido en tienda de venta de cosméticos.
- ▲ 2 muestra de producto adquirido en un puesto de calle.

### 1.3. VERIFICACION Y REGISTRO DE INFORMACION DE LAS MUESTRAS

La adquisición de las muestras (Ilustración N° 12) de producto tal como se determina en el punto 1.2 del presente capítulo, han sido sometidas a la verificación y determinación de su procedencia, si presenta o no formulación declarada, si cuenta con un empaque final (caja, estuche o precinto de seguridad), si lleva la NSO, y se determinó además, la forma de adquisición del producto así como las condiciones de almacenamiento o condiciones del lugar de venta antes de que estas hayan sido adquiridas. Lo anteriormente indicado se presenta en la tabla N° 5, donde se registra la información y revisión de las muestras.

**Tabla N° 5: Registro de información y revisión de las muestras**

Numero	Modo de adquisición del producto	formulación declarada	Compuestos tóxicos	Empaque final	Condiciones de almacenamiento	NSO	País de origen
1	Tienda de venta de cosmeticos	Agua, óxido de hierro negro, alcohol etílico, glicerina, cerafil 50, tween 20 (polisorbato) veegum ( magnesio y silicato de aluminio, nipasol, germal 115 y vitamina E y tenox BHA	tenox BHA		dentro de la tienda	No	USA
2	Puesto de la calle	No	Se desconoce	No	El producto se encontraba en una tarima, sin protección solar alguna.	No	No indica.
3	Mercado de la zona	A prueba de agua. Agua destilada, propil parabeno, glicerina, PVP, polisorbato 20, laurato de sorbitán, celulosa, puede contener: mica, azul No. 1 DC, amarillo No. 5 D y C, óxidos de hierro, partícula poliéster.	propil parabeno	No	El mercado esta dentro de un galpon, donde cada puesto de venta se encuentra cubierto de los rayos solares.	No	CHINA

Numero	Modo de adquisición del producto	formulación declarada	Compuestos tóxicos	Empaque final	Condiciones de almacenamiento	NSO	País de origen
4	Puesto de la calle	No	Se desconoce	No	El producto se encontraba en una tarima, sin protección solar alguna.	No	CHINA
5	Catalogo	Agua, Propilen glicol, pentilen glicol, etil hexil glicerina, alcohol, silicato aluminio de magnesio, fenoxietanol ácido estearico, estearato de glicerina, celulosa, hectorite, goma xantana, ácido cítrico, hidróxido de sodio, acrilato cospolímero, puede contener CI77491, CI 77510, CI 77492	No	SI	Venta en una tienda que comparte con una peluquería	CNPJ	BRAZIL
6	Catalogo	Agua destilada, PPV, imidazolidinil urea, carboximetilcelulosa, silicato de aluminio y magnesio, alcohol etílico, alcohol isopropílico, a, monoleato de sorbitán, sílica, copolímeros de acrilato, laureth 21, metilparabeno, propilparabeno, BHT, puede contener: óxidos de hierro, rojo 5, rojo 40, amarillo 5, mica	metil parabeno, propil parabeno, BHT	SI	En la calle, puesto de venta, con una toldo para la protección del sol	Si	PERU
7	Tienda de venta de cosmeticos	Waterproof, Pure wáter, hydroxyethyl, cellulose, acrylatescopolymer, glyceryl stearate, tocopherylacetate , D-pantothenic acid sodium salt, propylparaben, may contain: iron oxides	Glyceryl stearate, propylparabeno		dentro de la tienda	No	CHINA

Fuente: Elaboración propia. Diciembre 2018

Las muestras de productos seleccionados fueron codificadas con un número al azar, para realizar el seguimiento desde el inicio, hasta la obtención de los resultados de deterioro microbiano y especialmente microbiológicos finales, tal como indica la Ilustración N° 12.

### **Ilustración N° 12: Muestras obtenidas de delineadores líquido**



Fuente: Elaboración propia. Noviembre 2017

En la ilustración N° 12, se puede ver claramente que las muestras de los productos obtenidos, tienen diferentes envases, así mismo se puede apreciar claramente, que los volúmenes de contenido varían desde: 2,5 mL (muestra 2), 3 mL (muestra 1, 5 y 7), 7,5 mL (muestra 3 y 6), 12 mL (muestra 4).

#### **1.4. REVISIÓN Y VERIFICACIÓN DEL DETERIORO MICROBIANO.**

Para realizar la revisión y verificación del posible deterioro microbiano inicial de las muestras adquiridas, primeramente, se realiza los siguientes pasos:

- La revisión se inicia con la observación general a realizarse en cada uno de los envases de los delineadores líquidos, buscando específicamente cambio de la forma de los mismos.

- Considerando que los envases son de colores oscuros, y no transparentes, se debe vaciar una cierta cantidad del contenido en un vidrio de reloj para realizar la inspección visual de las muestras como indica la ilustración N° 13.
- Se realiza la inspección visual para verificar posible deterioro microbiano evaluando los aspectos organolépticos que presenta cada una de las muestras a ser analizadas. Ver anexo 1.
- La tabla N° 6 muestra los parámetros y criterios de la evaluación, así como los resultados obtenidos en la verificación del deterioro microbiano inicial realizado a cada una de las muestras.
- Los resultados obtenidos para las siete muestras, se presentan similares durante los siete experimentos, por lo que se expresa en la tabla N° 6 de manera general, afirmando que todas las muestras cumplen con criterios de aceptación para cada parámetro especificado en dicha tabla respecto al deterioro microbiano. La muestra número 4, no presenta un cierre hermético y a la apertura de la tapa, emite un olor penetrante a pintura, solventes, similar al de gasolina.

### **Ilustración N° 13: Inspección visual de muestras**



Fuente: Elaboración propia. Noviembre 2017

**Tabla N° 6: Resultado de la Verificación del deterioro microbiano inicial**

<b>Parámetros</b>	<b>Criterios de aceptación</b>	<b>Resultado</b>
Evidencia directa visual de crecimiento microbiano.	No se evidencia turbidez ni se evidencia alteración alguna.	
Cambio de color.	No presenta decoloración, o cambio en el color inicial.	
Deformación del envase.	Los envases mantienen su forma inicial.	
Producción de malos olores.	No se presenta cambio de olor ni presenta olor de descomposición alguna	
Separación de fases en las emulsiones.	No se evidencia separación de fases	
Sedimentación de los materiales suspendidos.	No se evidencia sedimentación de componentes de la formula	

Fuente: Elaboración propia. Noviembre 2017

### **1.5. TOMA DE MUESTRA DE LOS PRODUCTOS ADQUIRIDOS**

La toma de muestra de los envases de los delineadores líquidos para la ejecución de los análisis, se realizó según las especificaciones establecidas en la Normas de Buenas Prácticas de Manufactura para la Industria del Cosmético de la Comunidad Andina, tomando en cuenta el lugar de la aplicación del cosmético.

Esta actividad se desarrolló bajo la responsabilidad del profesional encargado del presente trabajo de investigación, en un laboratorio de microbiología tomando en cuenta la presente tabla:



**Tabla N° 7: Cantidad de muestra para análisis**

<b>Forma cosmética</b>	<b>Lugar de aplicación</b>	<b>Producto Cosmético</b>	<b>Cantidad de muestra para Análisis microbiológico</b>
LIQUIDO	Área de los ojos	DELINEADOR LIQUIDO	1 mL

Fuente: Elaboración propia, noviembre 2017

La tabla N° 7 identifica cuatro columnas de las cuales la primera hace referencia a la forma cosmética que tiene el delineador, la segunda columna el lugar de aplicación, para la tercera columna el tipo de cosmético y en última la cantidad de muestra para análisis microbiológico, tomada como referencia de la Farmacopea Americana USP 37 debemos obtener una dilución de 1 en 10. Siendo que las muestras tienen un volumen mínimo de 2,5 mL y máximo de 12 mL, la cantidad de muestra a ser tomada de cada producto muestreado es de 1 mL.

#### **1.6. PROTOCOLO DEL DESARROLLO DE PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS.**

El desarrollo de las pruebas microbiológicas es la base principal del presente trabajo de investigación, por lo que la realización de todas las actividades para el logro de resultados seguros debe ser tomada en cuenta.

Las actividades iniciales a desarrollarse, son de tipo preventivas. Su cumplimiento permite eliminar los posibles contaminantes que provocarían dar como resultado final, los falsos positivos si estos no son tomados en cuenta.

– Inicialmente se realiza la verificación a las actividades preliminares y programadas.

- En la tabla N° 8, se presenta estas actividades preliminares y el grado de cumplimiento, el mismo se puede ver en el anexo 2.
- Los resultados obtenidos demuestran que todos los parámetros establecidos, han sido cumplidos.
- En consecuencia, estos resultados nos dan la seguridad, de que no existirá ninguna contaminación externa al producto a ser ensayado.

**Tabla N° 8: Cumplimiento a las actividades preliminares**

Actividades	Cumplimiento
Limpieza y desinfección del ambiente, área de trabajo, equipos y utensilios.	El área de trabajo se encuentra limpia y sanitizada. Los utensilios y equipos se encuentran limpios y sanitizados. Los utensilios y material de vidrio, están previamente esterilizados.
Higiene personal del analista, uso de guantes, barbijo y ropa de trabajo adecuada para el área de microbiología.	El personal con higiene personal elevada, uniforme limpio, utiliza guantes, barbijo, gorra, ropa adecuada para la actividad del área.
El personal debe tener conocimiento del comportamiento dentro del área de Microbiología.	El personal es un profesional que ha trabajado en el área y tiene el conocimiento y comportamiento adecuado dentro del área, evitando movimientos, y conversaciones innecesarias.

Fuente: Elaboración propia. Noviembre 2017.

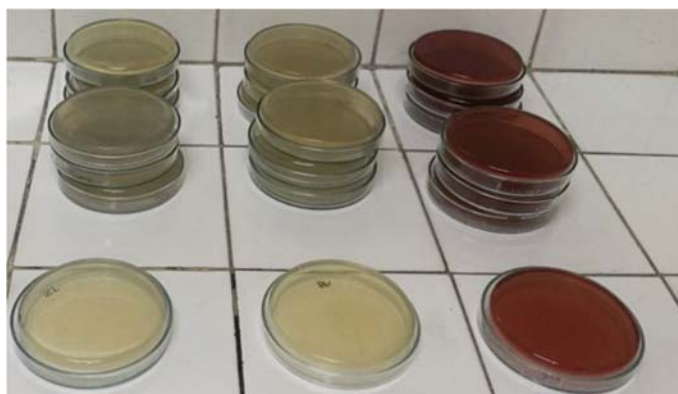
- Como comportamiento dentro del área, nos referimos a que debe cumplir con: no hablar, no comer, no realizar movimientos bruscos, realizar la sanitización de manos después de cada tarea, el uso adecuado de la ropa de trabajo, la desinfección y el trabajo de cualquier ensayo microbiológico utilizando como barrera, la llama del mechero.

### 1.6.1. Preparación de los medios de cultivo

Siguiendo las instrucciones del proveedor de los medios de cultivo indicados en el anexo 3, se procede a la preparación, realizando el pesado del medio de cultivo elegido y calculando la cantidad según el volumen a preparar.

- Identificar los matraces utilizados con el nombre del medio de cultivo y volumen de agua purificada a preparar.
- Preparar el medio de cultivo, someter a fuego lento agitando constantemente, evitando que rebalse durante la ebullición.
- Se procede a su esterilización en autoclave durante 15 min. A 121 °C y 1,5 atmosferas de presión.
- Dejar enfriar hasta 50 °C.
- El volumen dispensado en cada caja Petri es de aproximadamente 35mL
- Se identifican las cajas Petri, con los medios de cultivo dispensados.
  - **ST** – Soya Caseina
  - **SA** – Sabourand Dextrosa
  - **MK** – Mac Conkey
- Se verifica que el medio de cultivo no debe contener gotas de condensación sobre la superficie.
- Las placas con los medios de cultivo dispensados, están listos para su uso en la siembra.

**Ilustración N° 14: Medios de cultivo dispensados en cajas Petri.**



Fuente: Elaboración propia. Noviembre 2017.

En la ilustración N° 14 se puede observar que en la primera fila a la izquierda, se encuentran las cajas Petri con los medios de cultivo de Soya Caseína, en la fila del medio, se encuentran las cajas Petri con el medio de cultivo Sabourand dextrosa, y en la parte final o derecha, se encuentran las placas con medio de cultivo Mac Conkey para poder realizar las pruebas microbiológicas señaladas en la tabla N° 7 y N° 8 respectivamente.

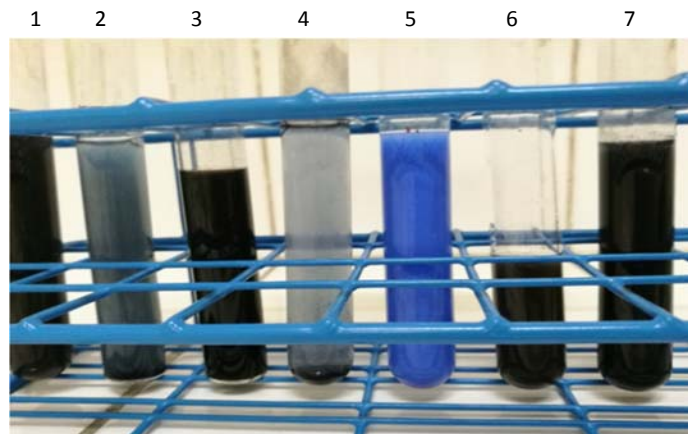
### **1.6.2. Preparación de la Muestra**

La preparación de la muestra se realiza en función a los siguientes pasos explicados a continuación.

- Con la ayuda de una pipeta de vidrio de 1 mL se toma la muestra de los envases de producto seleccionados para el análisis microbiológico a ser realizado.
- En aquellos envases donde la boca del recipiente es muy pequeña, se toma la muestra con una jeringa de insulina. Tener cuidado de dispensar todo el contenido de la muestra.

- Las preparaciones de las muestras seleccionadas tienen una dilución de 1:10. El disolvente utilizado es el agua destilada. Esta relación da como resultado: 1 mL de producto (delineador líquido) en 9 mL de agua destilada.
- Se realiza el mismo procedimiento para las siete muestras a ser analizadas. (Ilustración N° 12).
- Se identifican cada uno de los tubos de vidrio conteniendo la respectiva muestra en dilución. Ilustración N° 15.

### **Ilustración N° 15: Preparación y numeración de las Muestras**



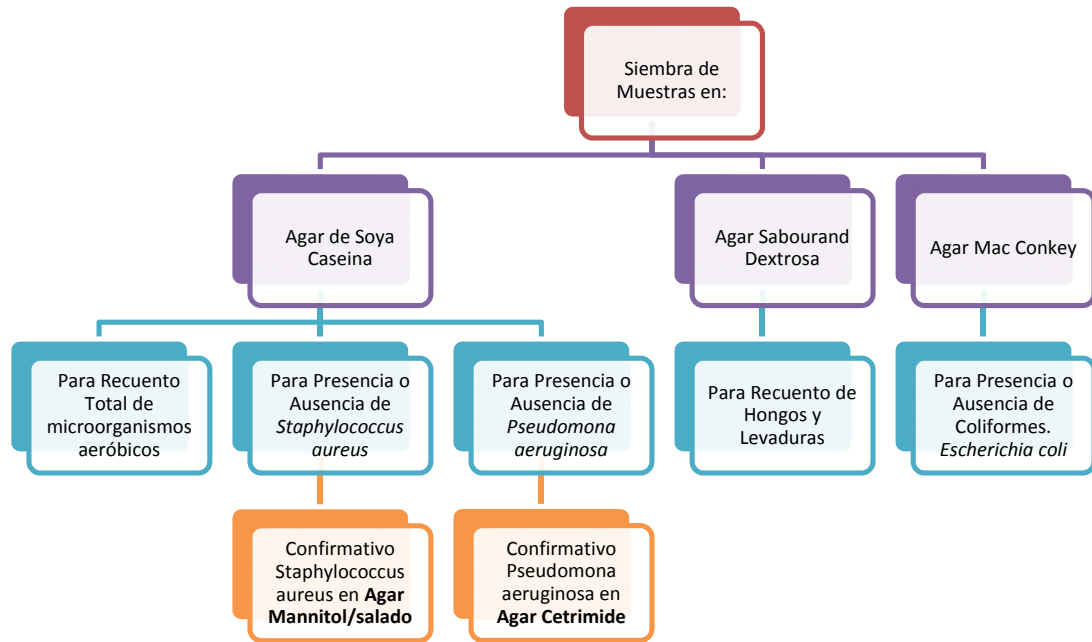
Fuente: Elaboración propia. Noviembre 2017

Los tubos preparados muestran diferencia de coloración e intensidad. Las muestras 1, 2, 3, 4, 6 y 7 son delineadores de color negro. La muestra 5 es de coloración azul. Cada una de las muestras a ser analizadas tiene una dilución final de 1:10.

#### **1.7. ESQUEMA DE LA SIEMBRA DEL PRODUCTO**

A continuación, se encuentra el esquema mediante el cual se sostiene la parte práctica para la siembra del producto, el cultivo, su observación y posterior lectura.

#### Esquema N° 4: Siembra de Producto en Medios de Cultivo



Fuente: Elaboración Propia.

##### 1.7.1. Siembra de muestras en el medio de cultivo

- El método de Recuento en Placa y la técnica de Vertido en Placa es el que será utilizado en este proceso.
- Alistar las cajas Petri que serán utilizadas para cada muestra y para cada ensayo como esta descrito en la ilustración N° 15.
- Trabajar a la luz del mechero.
- Identificar las placas con el número de muestra a ser ensayado.
- Asépticamente, con una pipeta estéril transferir 1 mL de la muestra en dilución 1/10, a cada uno de los medios de cultivo preparados. Ilustración N° 16.

- Rotar la placa con movimientos lentos con el objeto de impregnar la muestra en toda la superficie de la placa. Reponer la tapa.
- Se invierten las placas tal como lo demuestra la ilustración N° 17 y se incuban en la estufa específica para cada medio de cultivo, explicado en la tabla 2 y 3 respectivamente.
- Realizar el mismo procedimiento para todas las muestras y los distintos medios de cultivo.

**Ilustración N° 16: Siembra de las muestras en las cajas Petri**

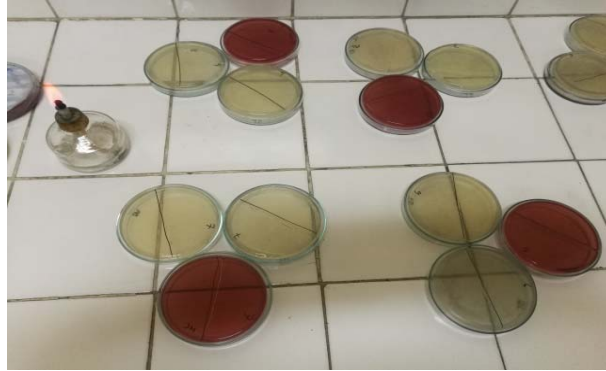


Fuente: elaboración propia. Noviembre 2017

Los análisis microbiológicos realizados son:

- Recuento de Microorganismos Aerobios totales. El Medio utilizado es de Agar de Soya Caseína.
- Para los Hongos y Levaduras, el medio Sabourand Dextrosa.
- Para el recuento de microorganismo específico *Escherichia coli*, el medio Mac Conkey.
- Para los microorganismos específicos *Staphylococcus aureus*, y *Pseudomona aeruginosa*, medio de cultivo inicial Agar de Soya Caseína, para promocionar el crecimiento de estos microorganismos.

**Ilustración N° 17: Medios de cultivo con siembra de cada muestra.**



Fuente: elaboración propia. Noviembre 2017

**1.7.2. Incubación de placas**

Realizada la siembra de cada dilución de la muestra de delineador líquido, y debidamente identificado, se realiza la incubación de las placas, en las estufas de cultivo (Ilustración N° 18).

**Ilustración N° 18: incubación de placas**



Fuente: Elaboración propia. Noviembre 2017

- La incubación se realiza de forma inmediata para prevenir el crecimiento de colonias invasivas por acumulación de humedad.



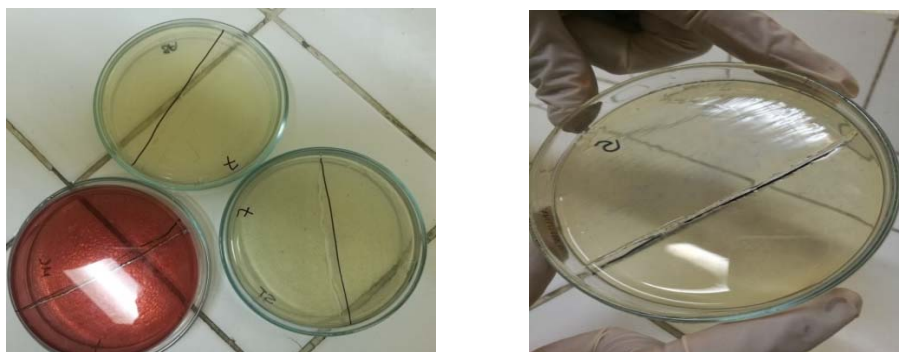
- La primera incubadora, está programada a una temperatura de 25°C +/-2°C, específicamente para los Hongos y Levaduras.
- La segunda, está programada a una temperatura de 35°C +/-2°C, que es la temperatura donde pueden desarrollar microorganismos aeróbicos y anaeróbicos.
- El tiempo y la temperatura esta especificada para cada medio de cultivo en la tabla N° 2 y N° 3).

### 1.7.3. Lectura de las placas

A la conclusión del tiempo de incubación se retiran las cajas Petri sembradas de las estufas de cultivo para verificar el crecimiento de microorganismos.

- Se coloca a medio ambiente
- Agrupar las cajas Petri por numeración.
- Verificar el crecimiento microbiano
- Con la llama de un mechero que sirve como barrera entre el medio de cultivo y el analista, se realiza la lectura de cada una de ellas (Ilustración 19).
- Registrar en el protocolo de lectura, el medio de cultivo, el número de muestra, la dilución utilizada, el número de colonias contadas en cada placa. Este procedimiento para todas las muestras analizadas. Esto se puede verificar en el anexo 4.

#### Ilustración N° 19: Lectura de placas sembradas sin desarrollo de colonias



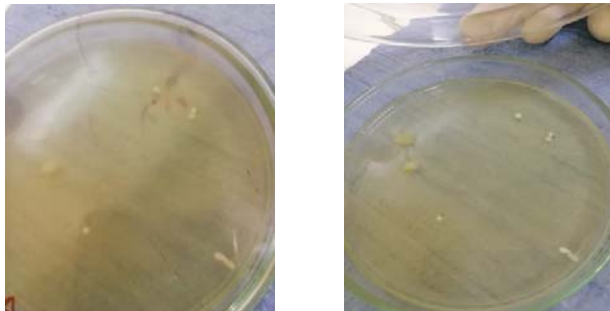
Fuente: Elaboración propia. Noviembre 2017.

La ilustración N° 19, presenta los resultados de las placas incubadas en los distintos medios de cultivo. Las pruebas para la recuperación de microorganismos realizado en las muestras: 1, 3, 5, 6 y 7 no presentan crecimiento en ninguno de los medios utilizados. Ver anexo 4. En la ilustración N° 19 también se puede apreciar, las estrías en el medio de cultivo formadas al realizar la siembra.

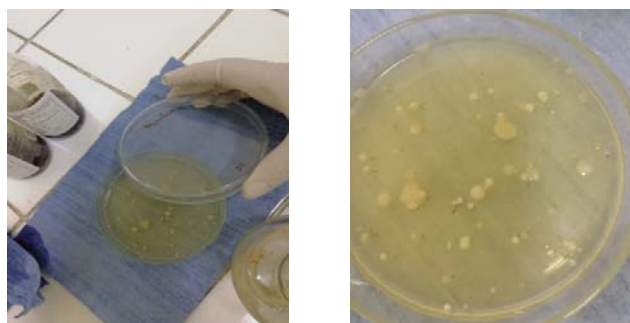
Así mismo se hace la lectura de las placas que contienen las muestras 2 y 4, donde se evidencian crecimiento microbiano en la superficie del medio.

#### **Ilustración N° 20: Lectura de placas sembradas con desarrollo de colonias**

##### **Muestra 2**



##### **Muestra 4**



Fuente: Elaboración propia. Noviembre 2017.

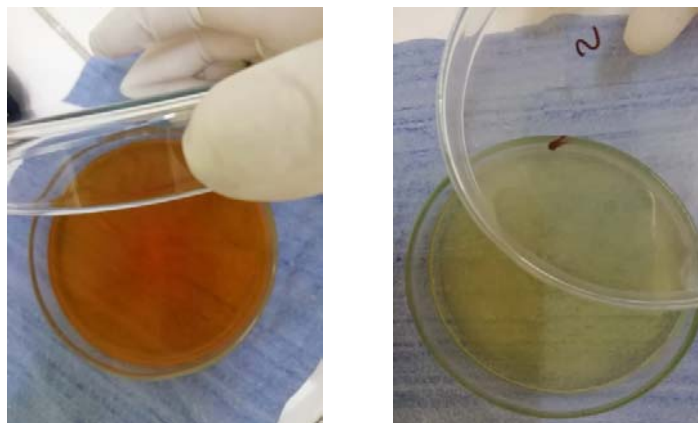
La ilustración N° 20, presenta los resultados de las placas incubadas que si presentan desarrollo de colonias.

El crecimiento que presentan las muestra 2 y la muestra 4, se verifica en el medio de cultivo de Soya caseína; las demás placas no mencionadas, están libres de crecimiento. Ver anexo 4 donde están registrados los resultados de las lecturas realizadas.

Al verificar la presencia de colonias desarrolladas en estas muestras, se procede a realizar la preparación de los medios de cultivo para la realización de los ensayos Confirmativos tal como lo muestra la Ilustración N° 21:

- Agar Cetrimide para confirmar presencia de *Pseudomona aeruginosa*
- Agar Mannitol salado para confirmar presencia de *Staphylococcus aureus*

#### **Ilustración N° 21: siembra en medio de cultivo Específicos**



Fuente: Elaboración propia. Diciembre 2017.

Para la inoculación de la muestra se realiza los siguientes pasos:


- De la placa con crecimiento de colonias aeróbicas, se toma un grupo de colonia con una aza previamente flameada y enfriada y se traspasa esta muestra, al medio de cultivo seleccionado para promover el desarrollo del microorganismo específico, realizando el sembrado por desgaste de la colonia.
- Se realiza la incubación de las placas ya sembradas siguiendo lo descrito en la tabla N° 3 que indica Incubar a una temperatura de 30 a 35°C. Durante un período de 18 a 72 horas.
- Al término de la incubación, se realiza la lectura del Sub cultivo inoculado de las placas específicas para los microorganismos *P. aeruginosa*, y *S. aureus*.
- Se evidencia ausencia de microorganismos específicos por la falta de crecimiento en los medios de cultivo específicos seleccionados.

#### **1.8. PRESENTACION DE RESULTADOS OBTENIDOS POR MUESTRA ANALIZADA.**

Habiéndose realizado los análisis microbiológicos por cada muestra, se expresan los mismos en tablas donde se puede apreciar de forma específica los siguientes puntos:

- ▲ El número de muestra y la dilución del producto.
- ▲ La foto que representa a cada una de las muestras.
- ▲ Los ensayos microbiológicos realizados.
- ▲ La especificación de la norma que es la referencia documental.
- ▲ Los resultados obtenidos después de la lectura.


**Tabla N° 9: Resultados Muestra N°1**

<b>Muestra (Imagen)</b>	<b>Ensayos Microbiológicos</b>	<b>Límites de aceptación</b>	<b>Resultado obtenido en dilución 1:10</b>
No.1	Recuento de microorganismos Aeróbicos totales	5x10 <sup>2</sup> UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Recuento de Hongos y Levaduras	1x10 <sup>3</sup> UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente en 1 mL	Ausente

Elaboración propia.

La tabla 9 expresa los resultados obtenidos después de realizada la lectura de la muestra N° 1. Demuestra que, en los ensayos realizados, existe ausencia de microorganismos, hongos o levaduras, y que los microorganismos específicos tampoco están presentes, lo que representa un cumplimiento a los límites de aceptación.


**Tabla N° 10: Resultados Muestra N° 2**

Muestra (Imagen)	Ensayos Microbiológicos	Límites de aceptación	Resultado obtenido en dilución 1:10
No. 2	Recuento de microorganismos Aeróbicos totales	$5 \times 10^2$ UFC/ mL	80 UFC/ mL
	Recuento de Hongos y Levaduras	$1 \times 10^3$ UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente en 1 mL	Ausente

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 10 expresa los resultados obtenidos después de realizada la lectura de la muestra N° 2 Demuestra que, en los ensayos realizados, existe un crecimiento de colonias en el medio de cultivo de Soya caseína. El recuento de la placa da como resultado 80 UFC/mL. (8 colonias x dilución de 1:10 = 80). Si bien existe un crecimiento microbiano, este se encuentra dentro de los límites de aceptación. Los otros análisis realizados para la muestra N° 2 se encuentran dentro de los límites de aceptación.


**Tabla N° 11: Resultados Muestra N° 3**

<b>Muestra (Imagen)</b>	<b>Ensayos Microbiológicos</b>	<b>Límites de aceptación</b>	<b>Resultado obtenido en dilución 1:10</b>
No. 3	Recuento de microorganismos Aeróbicos totales	$5 \times 10^2$ UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Recuento de Hongos y Levaduras	$1 \times 10^3$ UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente en 1 mL	Ausente

Fuente: Elaboración propia.

En el resultado de la prueba para la muestra N° 3 presente en la tabla N° 11, se observa que el recuento de microorganismos se encuentra ausente al igual que los hongos y levaduras, y los microorganismos específicos están ausentes. Resultado que se encuentra dentro de límites de aceptación.

**Tabla N° 12: Resultados Muestra N° 4**

Muestra (Imagen)	Ensayos Microbiológicos	Límites de aceptación	Resultado obtenido en dilución 1:10
No.4	Recuento de microorganismos Aeróbicos totales	$5 \times 10^2$ UFC/ mL	720 UFC/ mL
	Recuento de Hongos y Levaduras	$1 \times 10^3$ UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente en 1 mL	Ausente

Fuente: Elaboración propia.


La tabla N° 12 expresa los resultados obtenidos después de realizar la lectura de la muestra N° 4. Se observa que, de los 5 ensayos realizados, existe uno que es el Recuento de aeróbicos totales que presenta crecimiento de colonias en el medio de cultivo de Soya caseína. El recuento de la placa da como resultado 720 UFC/mL. (72 colonias x dilución de 1:10 = 720). Este valor indica que el análisis de recuento de aerobios totales, está fuera de los límites de aceptación establecidos (500 UFC/mL).

El resultado obtenido en la muestra N° 4 que se encuentra fuera de los límites de aceptación, representa un indicador de una posible contaminación microbiológica de la muestra, la que podría ocasionar al consumidor una infección ocular por el uso del



delineador contaminado, que en muchos casos esta infección es atribuida a otros factores y no a la raíz del problema.


**Tabla N° 13: Resultados Muestra N° 5**

Muestra (Imagen)	Ensayos Microbiológicos	Límites de aceptación	Resultado obtenido en dilución 1:10
No.5	Recuento de microorganismos Aeróbicos totales	$5 \times 10^2$ UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Recuento de Hongos y Levaduras	$1 \times 10^3$ UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente en 1 mL	Ausente

Fuente: Elaboración propia.

En la prueba para la muestra N° 5 presente en la tabla N° 13, se observa que el recuento de microorganismos se encuentra ausente al igual que los hongos y levaduras, y por lo tanto los microorganismos específicos también están ausentes. Estos datos, dan como resultado que la muestra N° 5 se encuentran dentro de los límites de aceptación.


**Tabla N° 14: Resultados Muestra N° 6**

Muestra (Imagen)	Ensayos Microbiológicos	Límites de aceptación	Resultado obtenido en dilución 1:10
No. 6	Recuento de microorganismos Aeróbicos totales	$5 \times 10^2$ UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Recuento de Hongos y Levaduras	$1 \times 10^3$ UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente en 1 mL	Ausente

Fuente: Elaboración propia.

En la prueba para la muestra N° 6 presente en la tabla N° 14, se observa que el recuento de microorganismos al igual que los hongos y levaduras no tuvo un crecimiento microbiano. Con relación a los microorganismos específicos, estos también están ausentes. Por lo tanto, la muestra N° 6 está dentro de los límites de aceptación.

**Tabla N° 15: Resultados Muestra N° 7**

Muestra (Imagen)	Ensayos Microbiológicos	Límites de aceptación	Resultado obtenido en dilución 1:10
No.7	Recuento de microorganismos Aeróbicos totales	$5 \times 10^2$ UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Recuento de Hongos y Levaduras	$1 \times 10^3$ UFC/ mL	0 UFC/ mL
	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente en 1 mL	Ausente
	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente en 1 mL	Ausente

Fuente: Elaboración propia.

En la prueba realizada para la muestra N° 7 y la revisión de datos de la lectura expresadas en la tabla N° 15, se observa que el recuento de microorganismos al igual que los hongos y levaduras no tuvo un crecimiento alguno. Con relación a los microorganismos específicos, se vio que ninguno presentaba crecimiento alguno. Por lo tanto esta muestra se encuentra dentro de los límites de aceptación.

## CAPITULO V

### 1. CONCLUSIONES

- Mediante el presente trabajo de grado se realizó la verificación del cumplimiento de límites de aceptación microbiológica de los delineadores líquidos para ojos que son comercializados en mercado “Uyustus” de la ciudad de La Paz. Dicha comprobación se realizó por medio de la determinación de deterioro microbiano y análisis microbiológicos exigidos por la norma vigente en Bolivia.
- Así mismo se plasma en el presente trabajo de grado la verificación inicial de un posible deterioro microbiano de las muestras analizadas, en la cual se observa que ninguna de las muestras presenta inicios de este.
- Del total de las muestras analizadas se pudo evidenciar que dos de ellas presentan crecimiento microbiano en el medio de cultivo soya caseína para el recuento de microorganismos aeróbicos totales. Una de ellas, la muestra No. 2, se encuentra dentro de los límites de aceptación. Sin embargo, la muestra No. 4, no cumple con el estándar de calidad para este ensayo siendo que su recuento presenta un crecimiento superior al del límite de aceptación.
- Si bien el ensayo de hongos y levaduras no se encuentra dentro del requisito exigidos por la norma de la CAN para ser realizado en el área de los ojos, es tomada en cuenta en el presente trabajo debido a la exposición de las demás partes circundantes del cuerpo, piel en general, a estos productos. Por lo cual la comprobación ha sido realizada con un resultado positivo a ausencia de hongos y levaduras, cumpliendo con el estándar de calidad.
- Dentro del desarrollo analítico microbiológico del trabajo de grado se presenta una determinación de ausencia de microorganismos específicos como sigue a continuación:
  - o *Escherichia coli*: Cultivado en el agar Mac Conkey, Ausente para todas las muestras.

- *Pseudomona aeruginosa*: Cultivado en el Agar Cetrimide, ausente para todas las muestras.
- *Staphylococcus aureus*: Cultivado en el Agar Mannitol salado, ausente para todas las muestras.
- Del muestreo realizado, se ha podido determinar que el 85,72% de las muestras seleccionadas, cumplen con los límites de aceptación para la calidad microbiológica. El 14,28%, corresponden a muestras contaminadas que representan un riesgo para la sociedad consumidora.
- El cumplimiento a la calidad microbiológica, puede deberse principalmente a que en su formulación cuentan con conservadores muy bien determinados. Por lo que este tema genera recomendaciones.
- Mediante la revisión bibliográfica, se ha podido aseverar la importancia que tiene el control microbiológico en productos que están cerca del área de los ojos, así como la Comunidad Andina de Naciones CAN, ha dado la importancia a este tema y lograron estandarizar los límites microbiológicos en la Resolución 1482 para cosméticos.

## **2. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda tomar como base este trabajo de grado, haciendo mayor hincapié en la composición de los delineadores líquidos, pudiendo brindar información de que ingredientes activos, o excipientes ocasionan incompatibilidades dentro de la formulación, y así mismo la determinación de ciertos componentes que no deberían ser usados para este tipo de productos.
- En la adquisición de muestras callejeras, se recomienda determinar mediante encuesta, el tiempo que la mercadería se encuentra en sus puestos antes de haber sido vendidos y la observación de las condiciones de almacenamiento.
- Es importante ampliar en una nueva investigación el presente trabajo de grado a una región aun mayor o diferente en el contexto social, para analizar diferentes características que puedan generar alguna información adicional sobre la posible afección al producto.
- Si bien existe una norma boliviana para cosméticos, resulta ser insuficiente el actual control realizado, por lo que es importante, generar un sistema que evite el ingreso de mercadería ilegal cuyo cumplimiento a los requisitos y reglamentos establecidos son dudosos, todo esto con el fin de proteger al consumidor final.

### 3. BIBLIOGRAFÍA

- [1]. 20 MINUTOS.ES (2012). *Una de cada cuatro mujeres sufre problemas en los ojos como consecuencia del maquillaje*. Recuperado el 14 de noviembre de 2017, de la página web: [www.20minutos.es/noticia/1348993/0/25-por-ciento-mujeres/problemas-ojos/a-causa-maquillaje/#xtor=AD-15&xts=467263#xtor=AD-15&xts=467263](http://www.20minutos.es/noticia/1348993/0/25-por-ciento-mujeres/problemas-ojos/a-causa-maquillaje/#xtor=AD-15&xts=467263#xtor=AD-15&xts=467263)
- [2]. American Optometría Association. (s.d). *Las alergias pueden ser un desastre para quienes usan lentes de contacto*. Recuperado el 14 de noviembre de 2017, de la página web: <https://es.vsp.com/enes/contacts-and-allergies.html>
- [3]. AGEMED. (2002). *Manual para notificación sanitaria obligatoria de cosméticos de Bolivia*, Decisión No. 516, CAN.
- [4]. Agencia EFE Salud (s.a.). *Que es la Escherichia coli (E.coli) y como se contagia?* Recuperado el 20 de abril de 2018, de la página web. [www.efesalud.com/e-coli-la-bacteria-peligrosa/](http://www.efesalud.com/e-coli-la-bacteria-peligrosa/)
- [5]. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. *Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos / Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria*. -- 1. ed. -- Brasilia: ANVISA, 2004. (Serie Calidad en Cosméticos; v. 1) ISBN 85-88233-15-0 I. Series Temáticas II. Cosméticos
- [6]. Al-Hazzaa Selwa, M. Krahn Peter. (1995) *Kohl: un peligroso delineador*, Journal Internacional de Oftalmología.
- [7]. Benaiges A. OFFARM (2004). *Cosmética decorativa. Maquillajes, barras de labios y lacas de uñas*, Offarm, Madrid-España
- [8]. Boletín de Actualidad (2018) *Noticias de la Industria Cosmética*, Recuperado el 10 de mayo 2018, de la página web: [http://www.industriacosmetica.net/boletines/boletin-\\_2018-01-11.html](http://www.industriacosmetica.net/boletines/boletin-_2018-01-11.html)

- [9]. Bonet R y Garrote A (2006) *Belleza y cuidado de los ojos, tratamiento de los problemas estéticos de la zona ocular*. OFFARM Madrid-España. Recuperado en 08 de mayo de 2018, de la página web: <https://es.scribd.com/document/330874563/Belleza-y-Cuidado-de-Los-Ojos>
- [10]. DECISIÓN 516 (Entró en vigencia el 15 de marzo de 2002) *Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos*. COMISIÓN DE LA COMUNIDAD ANDINA CAN y el Anexo 2.
- [11]. Delisle Gloria Microbe Library, ASM (S.A.). *Small Things Considered; Pseudomonas aeruginosa: Versatile Pathogen*. Recuperado el 20 de abril de 2018, de la página web: <http://schaechter.asmblog.org>
- [12]. Dermalook (s.f.). Historia del maquillaje. *De los orígenes hasta la optocosmética actual*. Recuperado el 20 de diciembre de 2017 de la página web: <http://www.dermalook.com/historia-del-maquillaje-de-los-origenes-hasta-la-optocosmetica-actual/>
- [13]. Europa Press. Sevilla (2018) *¿Qué consecuencias puede causar usar cosméticos agresivos en Carnaval?* Recuperado 6 de Febrero de 2018, de la página web: <https://www.heraldo.es/noticias/suplementos/salud/2018/02/09/que-consecuencias-puede-causar-usar-cosmeticos-agresivos-carnaval-1223944-1381024.html>
- [14]. European Pharmaceutical Review (S.D.). *Eczema wounds diseased by S. aureus contamination*. Recuperado el 20 de abril de 2018, de la página web: [europeanpharmaceuticalreview.com](http://europeanpharmaceuticalreview.com)
- [15]. Gutierrez de Gamboa Sofia, Pedrique de Aulacio Magali. (2002) *Deterioro Microbiano*. Recuperado el 14 de noviembre de 2017, de la página web: [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/)



- [16]. Higuita Alexandra. (2006). *Elaboración de un producto cosmético para el área de los ojos a partir de productos naturales, a escala de laboratorio*. Trabajo de Grado de Ingeniería de Procesos. Medellín: Universidad EAFIT.
- [17]. Hurtado, J. (2016) Estudio: *maquillaje en los ojos y la salud visual*. Fundación Rementería. Recuperado el 14 de noviembre de 2017, de la página web: <http://www.fundacionrementeria.es/index.php/formacion-pacientes/recomendaciones-salud-visual/maquillaje/estudio-maquillaje-en-los-ojos-y-la-salud-visual>
- [18]. Ilustración de archivo. Recuperado el 20 de abril, 2018 de la página web: [www.esalud.com/blefaritis/](http://www.esalud.com/blefaritis/) Enfermedades oculares por cosméticos, Blefaritis.
- [19]. Ilustración de archivo. Recuperado el 14 de mayo de 2018, de la página web: <https://www.vix.com/es/imj/2011/09/06/como-aplicar-delineador-liquido>
- [20]. Ilustración de archivo. Recuperado el 9 de mayo de 2018, de la página web: <https://es.dreamstime.com/Ilustración-de-archivo-cosm%C3%A9ticos-decorativos-para-el-maquillaje-image24459410>
- [21]. Jiménez Aznar Antonio (2000). *Determinación De Los Parámetros Físico-Químicos De Calidad De Las Aguas*. Revista interdisciplinar de gestión ambiental. ISSN 1575-1317.
- [22]. Laranoz Sonia (2002). *Conservantes cosméticos OFFAM*. Recuperado el 17 de abril de 2018, de la página web: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-conservantes-cosmeticos-13034831>
- [23]. Lazcano Miguel (2014) *En Bolivia el negocio de la belleza crece y mueve sumas millonarias*. La Razón Economía (Edición impresa). Recuperado el 9 de mayo de 2018, de la página web: [http://www.la-razon.com/economia/Bolivia-negocio-belleza-sumas-millonarias\\_0\\_2112388828.html](http://www.la-razon.com/economia/Bolivia-negocio-belleza-sumas-millonarias_0_2112388828.html)
- [24]. Mateus, A. & Galindo, J. (2012) *Delineador de ojos*. Recuperado el 14 de noviembre de 2017, de la página web: [es.calameo.com/read/0008089945c3895](http://es.calameo.com/read/0008089945c3895)

- [25]. Melo Zambrano Carol, Moncada Rodríguez Leydy (2016). *Propuesta documental para la ejecución de pruebas de Calidad con miras a establecer estabilidad cosmética*, UDCA. Bogotá Colombia.
- [26]. Normas del Food and Drug Administration FDA, de los Estados Unidos de América. *Listado de ingredientes cosméticos permitidos*. Recuperado 14 de noviembre de 2017, de la página web <http://www.cfsan.fda.gov>
- [27]. Reglamento del sistema nacional de control de cosméticos (2005). *Título III: De los ingredientes*. Recuperado el 17 de abril de 2018, de la página web: <http://www.ispch.cl>
- [28]. Rodríguez Sarmiento Catalina (2008). *Una mirada al mundo del maquillaje juvenil*. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de comunicación y lenguaje, carrera de comunicación social Bogotá-Colombia.
- [29]. Slideshare. Quezada Michelle (s.d). *Pseudomonas*. Recuperado el 20 de abril de 2018, de la página web: <https://es.slideshare.net/MichelleQuezada/pseudomonas-16991264>
- [30]. Tenesaca Cayambe Shirley (2012) *Tesis de grado Elaboración de cosméticos decorativos a partir de frutos Verdes de Genipa americana l*. Escuela superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba - Ecuador.
- [31]. Universidad de Valencia, España. Tema 10.- *Evaluación, calidad y gestión de calidad total en Documentación*. Recuperado el 17 de abril de 2018, de la página web: <https://www.uv.es/macas/T10.pdf>.
- [32]. USP 37 (Oficial desde el 1° de mayo 2014) *Farmacopea Americana de los Estados Unidos de Norteamérica*. Capítulo 66 Examen de Pruebas Microbiológicas. (61)
- [33]. Universo Formulas. (s.d). *Muestreo por conveniencia*. Recuperado 25 de febrero de 2018, de la página web: <http://www.universoformulas.com/estadistica/inferencia/muestreo-conveniencia/>

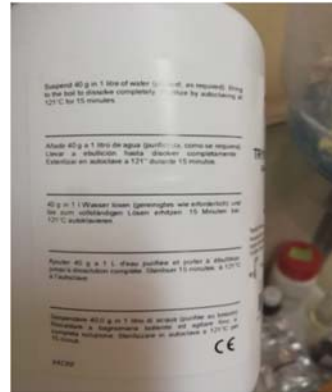
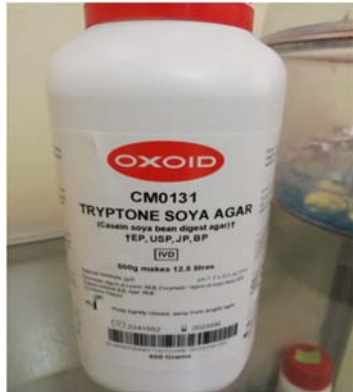
- [34]. Unidad de tratamiento *OFTALVIS*. (2015). *Blefaritis*. Recuperado diciembre 2018. De la página web: <https://www.oftalvist.es/es/especialidades/blefaritis>
- [35]. Ulda Clarck. *Lista de ingredientes tóxicos en cosméticos*. Recuperado en diciembre de 2018, de la página web:  
<https://www.muwellness.com/content/lista-de-ingredientes-tóxicos-en-cosméticos>
- [36]. Vila Jato J.L. (1997). *Tecnología Farmacéutica. Aspectos Fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas*. Vol. I y Formas Farmacéuticas. Vol. II. Ed. Síntesis. Madrid.
- [37]. Verónica Vivancos Gómez. (2015) *Formas cosméticas*. Recuperado 21 de Diciembre de 2018, de la página web:  
<https://revistadigital.inesem.es/biosanitario/formas-cosmeticas/>
- [38]. Vaishav Ragini. (2001) *Ejemplo de la toxicidad potencial de cosméticos tradicionales que se utilizan en el área de los ojos*, Journal India de Farmacología.
- [39]. Ver CDC Centro para el control y Prevención de Enfermedades EEUU. Recuperado noviembre 2018, de la página web:  
<https://www.cdc.gov/conjunctivitis/clinical-sp.html>
- [40]. Villadiego Laura. (2015) *Compuestos más peligrosos en cosméticos*. Recuperado diciembre 2018, de la página web:  
<https://www.carrodecombate.com/2015/02/18/los-12-quimicos-ms-peligrosos-en-los-cosmeticos/>
- [41]. Wilkinson J.B. y Moore, R.J. (1990). *Cosmetología de Harry*. Volumen 1. Barcelona: Edición Díaz de Santos. S.A.

**ANEXO 1: TABLA DE LA EVALUACION INICIAL DE POSIBLE DETERIORO MICROBIANO**

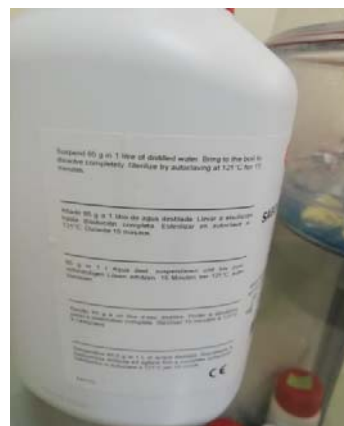
Parámetros	Criterios de aceptación	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6	Muestra 7
Evidencia directa visual de crecimiento microbiano.	No se evidencia turbidez ni se evidencia alteración alguna	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Cambio de color.	No presenta decoloración, o cambio en el color inicial	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Deformación del envase.	Los envases mantienen su forma inicial.	✓	la tapa no es segura	✓	✓	✓	✓	✓
Producción de malos olores.	No se presenta cambio de olor ni presenta olor de descomposición alguna.	✓	✓	✓	olor a solvente orgánico, muy pronunciado	✓	✓	✓
Separación de fases en las emulsiones.	No se evidencia separación de fases	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Sedimentación de los materiales suspendidos.	No se evidencia sedimentación de componentes de la fórmula	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

**ANEXO 3: MEDIOS DE CULTIVO, INDICACIONES DE PREPARACION**

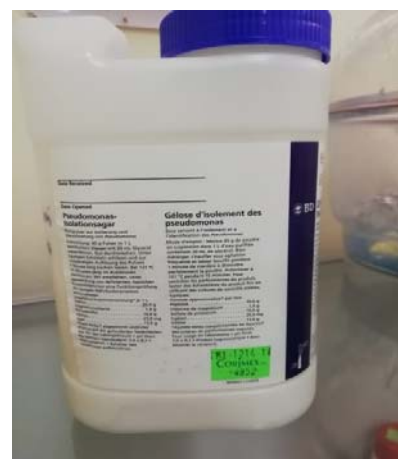
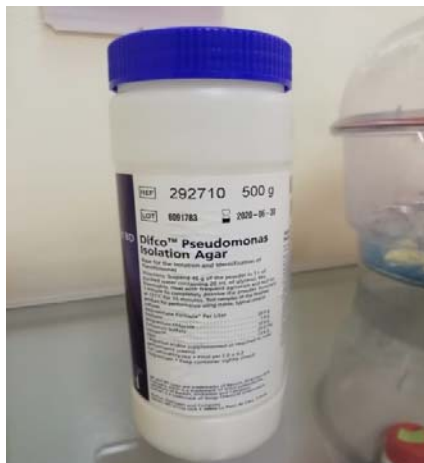
**MEDIO DE CULTIVO AGAR SOYA CASEINA**



**MEDIO DE CULTIVO AGAR SABOURAUD DEXTROSA**



**MEDIO DE CULTIVO PSEUDOMONA AGAR**



## MEDIO DE CULTIVO AGAR MANNITOL SALADO



## MEDIO DE CULTIVO AGAR MAC CONKEY

