

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA DE BIOANÁLISIS

**DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
LICENCIADO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA Y APLICADA**

**“CONTROL MICROBIOLÓGICO DE COSMÉTICOS ELABORADOS
ARTESANALMENTE EN BASE DE PRODUCTOS NATURALES EN LA
CIUDAD DE QUITO”**

Ana Carolina Andrade Estévez

Ana Belén Valdiviezo Aguilar

DIRECTORA: Lcda. Elena Granda Moreno

Quito, 2012

DEDICATORIA

A mis amados padres Narciza y Pablo ya que me han enseñado el significado de luchar y salir adelante en la vida, se han convertido en mi pilar más grande. Porque no han dudado nunca de mis capacidades y me han brindado su apoyo incondicional en los momentos más difíciles de mi vida, alentándome con su amor a seguir luchando día a día.

A mi hijo Pedro José por darle significado a mi vida, enseñarme que soy capaz de sobrellevar lo imposible y que con tu inocente mirada me entregas todo tu amor sincero. Este triunfo es para ti, te amo con toda mi vida.

A mis hermanos Pablo y Felipe que son mi apoyo, mis más grandes amigos. Porque me han acompañado siempre, los quiero mucho.

A toda mi familia, en especial a mis abuelitos amados Galo, Anita, Jesús y Leonor, me han brindado su apoyo y comprensión en los momentos más importantes de mi vida.

A mis queridos primos, primas, amigos y amigas por compartir conmigo penas y sobretodo alegrías y sinceramente formar parte de mi vida.

En especial a Jehová Dios por darme la vida, llenarla de bendiciones y permitirme conocer el amor sincero.

Ana Carolina

A mis padres Rosita y Ramier por su apoyo y amor incondicional, a mis abuelitos Jorgito y Dinita y a mi familia, puesto que sin su ayuda no hubiera podido culminar con éxito mi carrera universitaria.

A mis amigas y amigos incondicionales que con sus palabras de aliento me han ayudado a seguir adelante con mis estudios. Y a todas aquellas personas que forman parte de mi vida en especial a Boris que a pesar del poco tiempo me ha brindado su sincero amor y amistad.

Y de manera especial a Dios Todopoderoso por iluminar mí camino y brindarme la dicha de la vida y salud.

Ana Belén

AGRADECIMIENTO

A nuestras familias ya que gracias a su apoyo incondicional y especialmente a su gran amor, hemos culminado de manera exitosa nuestra carrera universitaria.

A nuestros amigos y amigas porque nos han acompañado y han formado parte importante de esta etapa de formación académica de nuestras vidas.

A la Lcda. Elena Granda por el apoyo que nos ha brindado en este tiempo de trabajo.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por abrirnos las puertas y permitirnos una educación de primera calidad.

Y en especial a Dios por darnos la dicha de una vida llena de amor.

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen	Pág. 1
Abstract	Pág. 2
Introducción	Pág. 3
Justificación	Pág. 5
Objetivos	Pág. 6
Objetivo General	Pág. 6
Objetivos Específicos	Pág. 6

CAPÍTULO I

1.1 Marco de Referencia	Pág. 7
1.1.1 Referencia Histórica	Pág. 7
1.2 Marco Teórico	Pág. 8
1.2.1 Factores determinantes de la contaminación del producto	Pág. 9
1.2.2 Control de calidad microbiológica de cosméticos	Pág. 9
1.2.2.1 Límites microbiológicos de productos cosméticos	Pág. 11
1.2.3 Microorganismos patógenos de importancia en la industria cosmética	Pág. 12
1.2.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	Pág. 13
1.2.3.2 <i>Candida albicans</i>	Pág. 16
1.2.3.3 Coliformes totales/ <i>Escherichia coli</i>	Pág. 18
1.2.3.4 <i>Burkholderia cepacia</i>	Pág. 22
1.2.3.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pág. 24
1.2.3.6 Infecciones oculares producidas por los diferentes microorganismos patógenos.	Pág. 26
1.2.3.6.1 Infecciones de los párpados y tejido alrededor del ojo	Pág. 26
1.2.3.6.2 Infecciones de la conjuntiva	Pág. 27
1.2.3.6.3 Infecciones de la córnea	Pág. 27
1.2.3.6.4 Infecciones Intraoculares	Pág. 28
1.2.4 Control de calidad de medios de cultivo	Pág. 28

CAPITULO II

2.1 Materiales y Metodología	Pág. 30
2.1.1 Localización	Pág. 30
2.1.2 Localización de las muestras	Pág. 30
2.1.3 Nomenclatura de las muestras	Pág. 30
2.1.4 Materiales	Pág. 31
2.1.5 Cepas nativas usadas para control de medios	Pág. 33
2.1.6 Calibración del material	Pág. 34
2.1.7 Protocolo de trabajo	Pág. 35
2.1.7.1 Transporte	Pág. 35
2.1.8 Desinfección y bioseguridad	Pág. 35
2.1.9 Material de desecho	Pág. 36
2.1.10 Procesamiento de las muestras	Pág. 36
2.1.10.1 Siembra de las muestras	Pág. 36
2.1.11 Interpretación de resultados	Pág. 38

CAPÍTULO III

3.1 Resultados y Discusión	Pág. 41
3.1.1 Fabricante 1	Pág. 41
3.1.1.1 Condiciones de expendio	Pág. 41
3.1.1.2 Tablas de Resultados	Pág. 41
3.1.2 Fabricante 2	Pág. 52
3.1.2.1 Condiciones de expendio	Pág. 52
3.1.2.2 Tablas de Resultados	Pág. 53
3.1.3 Análisis Estadísticos. Frecuencia relativa porcentual	Pág. 57
3.1.3.1 Porcentaje de contaminación Fabricante 1 y Fabricante 2	Pág. 57
3.1.3.2 Porcentaje de contaminación de los diferentes grupos productos de los Fabricantes 1 y 2	Pág. 58
3.1.3.3 Porcentaje de contaminación según el tipo de microorganismo	Pág. 59
Conclusiones	Pág. 62

Recomendaciones	Pág. 63
Glosario de términos y siglas	Pág. 64
Bibliografía	Pág. 66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Nomenclatura de las muestras	Pág. 31
Tabla 2. Listado y nomenclatura de cepas nativas	Pág. 34
Tabla 3. Control de calidad de medios	Pág. 34
Tabla 4. Tiempo, temperatura y tipo de siembra de microorganismos analizados	Pág. 38
Tabla 5. Tabla de interpretación de resultados para recuento de mohos y Levaduras y recuento total de Mesófilos aerobios	Pág. 39
Tabla 6. Tabla de interpretación de resultados para pruebas específicas de patógenos	Pág. 40
Tabla 7. Resultados de Mesófilos aerobios, Mohos y Levaduras de las muestras analizadas del Fabricante 1	Pág. 42
Tabla 8. Resultados de patógenos de las muestras analizadas del Fabricante 1	Pág. 43
Tabla 9. Resultados LPT Agar con muestras enriquecidas del Fabricante 1 después de 48h de incubación	Pág. 50
Tabla 10. Resultados de Mesófilos aerobios, Mohos y Levaduras de las muestras analizadas del Fabricante 2	Pág. 53
Tabla 11. Resultados de patógenos de las muestras analizadas del Fabricante 2	Pág. 54
Tabla 12. Resultados LPT Agar con muestras enriquecidas del Fabricante 2 después de 48h de incubación.	Pág. 55
Tabla 13. Confirmación de resultados muestras 7 y 9.	Pág. 57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Contenido COSMETIKIT	Pág. 33
Figura 2. Equipo de protección personal	Pág.35
Figura 3. Muestra 2, LPT Agar para Mesófilos aerobios	Pág. 42
Figura 4. Muestra 1, Mannitol Agar para <i>Staphylococcus aureus</i>	Pág. 44
Figura 5. Muestra 1, Biggy Agar para <i>Candida albicans</i>	Pág. 44
Figura 6. Muestra 2, Mannitol Agar para <i>Staphylococcus aureus</i>	Pág. 45
Figura 7. Muestra 2, Biggy Agar para <i>Candida albicans</i>	Pág. 45
Figura 8. Muestra 2, BCPT para <i>Burkholderia cepacia</i>	Pág. 46
Figura 9. Muestra 3, Mannitol Agar para <i>Staphylococcus aureus</i>	Pág. 47
Figura 10. Muestra 3, Biggy Agar para <i>Candida albicans</i>	Pág. 47
Figura 11. Muestra 3, Mugplus Agar para Coliformes totales/ <i>Escherichia coli</i>	Pág. 48
Figura 12. Muestra 4, Biggy Agar para <i>Candida albicans</i>	Pág. 48
Figura 13. Muestra 5, Biggy Agar para <i>Candida albicans</i>	Pág. 49
Figura 14. Muestra 1 preenriquecida en LPT Broth	Pág. 50
Figura 15. Muestra 2 preenriquecida en LPT Broth	Pág. 51
Figura 16. Muestra 3 preenriquecida en LPT Broth	Pág. 51
Figura 17. Muestra 5 preenriquecida en LPT Broth	Pág. 52
Figura 18. Muestra, 10 LPT Agar para Mesófilos aerobios	Pág. 54
Figura 19. Muestra 7 preenriquecida en LPT Broth	Pág. 56
Figura 20. Muestra 9 preenriquecida en LPT Broth	Pág. 56

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Esquema de procesamiento de cepas nativas

Pág. 33

Esquema 2. Esquema de procesamiento de muestras

Pág. 37

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Comparación del porcentaje de contaminación entre productos del Fabricante 1 y Fabricante 2	Pág. 58
Gráfico 2. Porcentajes de contaminación según el tipo de producto	Pág. 59
Gráfico 3. Porcentajes de contaminación según el tipo de microorganismo analizado	Pág. 60

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Norma UNE-EN-ISO 16140:2003	Pág. 71
Anexo 2. Certificado de validación del kit COSMETIKIT	Pág. 72
Anexo 3. Certificado del Instituto Nacional de Higiene Nacional y Medicina Tropical Leopoldo Izquieta.	Pág. 73
Anexo 4. Fotografías de las Muestras	Pág. 75
Anexo 5. Registros de cepas preservadas	Pág. 80
Anexo 6. Registro y monitoreo de la temperatura incubadora y ambiente.	Pág. 85
Anexo 7. Fotografías controles	Pág. 89
Anexo 8. Fotografías productos del Fabricante 1 resultados negativos.	Pág. 94
Anexo 9. Fotografías productos del Fabricante 2 resultados negativos.	Pág. 107

RESUMEN

Se considera un producto artesanal elaborado ya sea, totalmente a mano o con la ayuda de herramientas manuales o incluso medios mecánicos, con la contribución manual directa del artesano como el componente más importante del producto acabado. Los productos artesanales se producen sin limitación y utilizando materias primas procedentes de recursos sostenibles.

En el presente trabajo de investigación se analizaron muestras de cosméticos de elaboración artesanal de dos lugares del centro de Quito, a los cuales se los ha denominado como “Fabricante 1” y “Fabricante 2”, con el fin de chequear la seguridad para los consumidores de estos productos, por el riesgo que corren cuando estos no son manejados con los cuidados microbiológicamente esenciales. Los resultados encontrados fueron: los productos del Fabricante 1 presentaron un 100% de contaminación en comparación con los productos del Fabricante 2 en donde no se obtuvo presencia de microorganismos patógenos.

Las muestras analizadas corresponden a: loción, mascarilla, crema y colirio. Las pruebas microbiológicas requeridas en cosméticos son: Recuento total Mesófilos Aerobios, Recuento de Mohos y Levaduras, Ausencia/Presencia de *Staphylococcus aureus*, Ausencia/Presencia de *Pseudomonas aeruginosa*, Ausencia/Presencia *Burkholderia cepacia*, Ausencia/Presencia de Coliformes totales. *Escherichia coli*, Ausencia/Presencia de *Candida albicans*.

Se trabajó con el kit comercial COSMETIKIT de la casa comercial Microkit, el cual se basa en la Norma UNE-EN-ISO 16140:2003; el mismo que nos brindó el material adecuado para la realización de los análisis.

ABSTRACT

It is considered a handicraft, a product partially or completely made by hand or with the help of mechanical tools, with the direct manual contribution of the artisan as the most important component of the finished product. The handicraft's unlimited production is created from prime sustainable resources.

In the present investigation project, handmade cosmetics were analyzed from two different places in downtown Quito, thereby tagged "Fabricante 1" and "Fabricante 2", mainly because of the risks that the consumer is exposed to when these are not handled with the essential microbiological cares. Fabricante 1's products showed 100% contamination, compared to the products from Fabricante 2, in which the presence of pathogenic micro-organisms was nil.

Within the analyzed samples, we have the following: lotion, mask, cream and eye drop. The specific microbiology tests for cosmetics are: Aerobic Mesophilic Total Count, Yeast and Mold Count, Absence/Presence for *Staphylococcus aureus*, Absence/Presence for *Pseudomonas aeruginosa*, Absence/Presence for *Burkholderia cepacia*, Absence/Presence for Coliforms totals and *Escherichia coli*, Absence/Presence for *Candida albicans*.

For this investigation, the commercial kit COSMETIKIT, originated from the commercial house Microkit, based in the norm UNE-EN-ISO 16140:2003 was used. This Kit also provides the adequate material for the analysis.

INTRODUCCIÓN

“Los productos de belleza en general, y las cremas en particular registran orígenes tan interesantes como lejanos en la historia de la humanidad. Existen referencias provenientes del antiguo Egipto, que nos hablan de que perfumes y cremas eran fabricados cuidadosamente para uso general.

Se cree que las primeras aplicaciones y fórmulas, fueron en su momento creadas en la búsqueda de protección contra los efectos del viento y del sol. Los antiguos romanos y griegos conocían y hacían uso de cremas especialmente preparadas para tales fines.”⁴⁴.

La cosmética natural está basada en la producción artesanal de cremas y productos de belleza a base de plantas y extractos de origen vegetal.

El principio para la elaboración de productos cosméticos de forma artesanal consiste en el manejo de la materia prima evitando el uso de sustancias químicas y así lograr el aprovechamiento de sus nutrientes y propiedades.

Existe gran demanda de productos cosméticos naturales, debido a sus cualidades y bajos costos de comercialización, por lo que se realizó una investigación en la ciudad de Quito y se encontró la existencia de lugares encargados de la elaboración de productos cosméticos artesanales en el centro de la ciudad.

Estos sitios expenden sus productos sin control ni registro sanitario. Los organismos de control competentes, como son: Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), Junta de artesanos, Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical Leopoldo Izquieta Pérez y Ministerio de Producción (MIPRO) no tienen ningún registro⁷.

A nivel nacional e internacional no existen estudios microbiológicos para cosméticos artesanales, por lo que se tomó como base referencial las Normas de Calidad para productos cosméticos industriales tales como la UNE-EN-ISO 16140:2003, NORMA TECNICA COLOMBIANA NTE 4833, Norma ISO 22716, ISO 29621.

En este estudio se realizó el análisis microbiológico de productos de elaboración artesanal de dos sitios: Fabricante 1 y Fabricante 2 en el centro de la ciudad de Quito. No se contó con la apertura de los directivos de estos sitios, a pesar de haber solicitado una cita, supieron manifestar la falta de tiempo debido a sus actividades.

Se trabajó con una sola repetición de cada producto tomando en cuenta los parámetros del kit comercial COSMETIKIT que se rige en la Norma UNE-EN-ISO 16140:2003³⁷(Anexo 1).

JUSTIFICACIÓN

Al realizar este estudio se benefició de forma directa a las personas que trabajan en la producción, garantizando la calidad de sus productos.

Puesto que es una tradición en la ciudad de Quito el uso de estos productos, se benefició de forma indirecta a los consumidores, evitando así, posibles daños y perjuicios a la salud.

Fue de gran interés realizar este proyecto ya que además de colaborar con los beneficiarios directos e indirectos, fue un estudio novedoso y de gran expectativa puesto que no existe información de estudios de este tipo realizados anteriormente.

El proyecto a realizar fue factible y posible al trabajar con la casa comercial MICROKIT con su línea COSMETIKIT (Anexo 2) la cual cumple con los estándares de VALIDACIÓN de la Norma UNE-EN-ISO 16140:2003, y fue autofinanciado.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la calidad microbiológica de los cosméticos elaborados artesanalmente en base a productos naturales que se expenden en dos locales en la ciudad de Quito.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Especificar la carga microbiológica en los cosméticos elaborados artesanalmente por medio de pruebas de recuento, ausencia/presencia e identificación.
- Determinar si los cosméticos elaborados artesanalmente cumplen con los parámetros de calidad microbiológica basados en la Norma UNE-EN-ISO 16140:2003.
- Establecer el tipo de microorganismo que se presenta con mayor frecuencia en los cosméticos elaborados artesanalmente.
- Identificar en qué tipo de cosmético elaborado artesanalmente existe mayor carga microbiana.

CAPÍTULO I

1.1 MARCO DE REFERENCIA

1.1.1 Referencia Histórica.

Descubrimientos arqueológicos demostraron con el hallazgo de materiales afilados que se presume eran para colorear el cuerpo, la existencia de cosméticos desde hace millones de años, no obstante la elaboración de productos cosméticos como complementos artificiales para la estética corporal exterior se remonta hacia el antiguo Egipto, más específicamente en la era del reinado de Cleopatra donde los productos como cremas, jabones, sombras, labiales, etc., se producían a base de leche de animales, hiervas de la zona, y minerales en estado puro. Los egipcios fueron los pioneros en esta forma de representación de la estética lo que luego se transmitiría en formas diferentes pero bajo el mismo concepto de exagerar la belleza corporal a las culturas que surgieron a través del tiempo, hasta llegar a nuestros días en donde la elaboración de estos productos artificiales llamados ahora cosméticos se ha convertido en toda una industria que ha revolucionado el ideal de belleza llegando a convertirse en el complemento infaltable de ésta^{11, 49}.

En nuestro país principalmente en Quito existen patentes de empresas cosméticas internacionales como son Avon, Oriflame, Yanbal, Esika, etc., las cuales son reconocidas por su calidad de productos a pesar, de ser productos industrializados y contener preservantes para su conservación.

En cuanto a productos cosméticos naturales en la ciudad de Quito están los elaborados en el centro de la ciudad. Lamentablemente, no se encuentran registros de estudios microbiológicos de cosméticos artesanales en ninguno de los organismos de control competentes, como son: Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), Junta de artesanos, Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical Leopoldo Izquieta Pérez (Anexo 3) y Ministerio de Producción (MIPRO)⁷, por lo cual es necesario obtenerlos debido a que la ciudadanía recurre a estos productos

de consumo masivo. Se han revisado datos a nivel internacional específicamente en Brasil y España; y no existen estudios microbiológicos para este tipo de producción.

1.2 MARCO TEÓRICO

Los cosméticos, productos de higiene y perfumes son preparaciones a base de sustancias naturales o sintéticas, que son usados en diferentes partes del cuerpo humano, como son piel, sistema capilar, labios, órganos genitales externos, dientes y membranas mucosas de la cavidad oral, con el objetivo exclusivo o principal de limpiarlos, perfumarlos y/o corregir errores corporales, protegerlos y mantenerlos en buen estado¹.

Es muy común que al momento de adquirir productos cosméticos, de cualquier tipo, el consumidor revise las especificaciones del mismo para conocer cuál es la función principal del producto, cuáles son sus activos principales, presentación, tipo de envase y precio, sin embargo, lo que no es común es revisar los conservadores que llevan. Generalmente se da por hecho que el producto va a tener un tiempo de vida útil prolongado y que es seguro para la salud³⁸.

Por el agua en abundancia que incluyen las preparaciones cosméticas naturales y el empleo de sustancias que se pueden biodegradar fácilmente por microorganismos, los productos cosméticos se deterioran con el paso del tiempo³⁸.

La acción de los microorganismos puede ocasionar cambios en la apariencia, textura, color, olor en los cosméticos; en estos casos, el consumidor al detectar estos signos sospechosos rechaza el producto. Sin embargo, cuando la acción de los microorganismos no es evidenciada por alteraciones perceptibles a los sentidos básicos, la salud del consumidor se pone en riesgo.³⁸

La microbiología cosmética es una parte de la microbiología, especializada en la evaluación de la calidad microbiológica de los productos cosméticos, estudio de los factores que afectan el deterioro de las formulaciones, los métodos de control microbiológico y los principios de prevención y conservación¹.

1.2.1 Factores determinantes de la contaminación del producto.

- Materia prima: la utilización de materia prima contaminada, generalmente origina un producto de mala calidad, el grado de contaminación de la materia prima depende del origen de esta, la materia prima natural es más contaminada que la materia prima sintética, el agua utilizada en la fabricación del producto es uno de los factores de mas frecuente contaminación^{1,38}.
- Medio ambiente: los hongos y esporas bacterianas son microorganismos que están presentes en el aire y pueden entrar en contacto con el producto, para evitar esto se debe reducir las corrientes de aire dentro del área de fabricación y empaque^{1,38}.
- Equipo de fabricación y envasado: el producto puede contaminarse fácilmente, por diferentes microorganismos que se acumulan como consecuencia de una limpieza deficiente o inadecuada de los equipos^{1,38}.
- Personal: supone un riesgo microbiológico importante y difícil de controlar sobre todo en las elaboraciones artesanales, los operarios deben ser debidamente formados en hábitos de higiene personal, así como el seguimiento de las normas de correcta fabricación^{1,38}.
- Utilización por el consumidor: los cosméticos pueden contaminarse con la flora que se encuentra en la piel del usuario, para evitar esta contaminación se debe proteger el cosmético con ingredientes específicos denominados conservantes^{1,38}.

1.2.2 Control de calidad microbiológica de cosméticos.

A pesar del control y estudios necesarios que verifican que el producto cosmético es seguro cuando sale al mercado, desde el punto de vista microbiológico de recepción de las materias primas hasta que el producto está listo para ponerse en el punto de venta, pueden producirse errores que ponen de manifiesto la necesidad de controlar microbiológicamente todas las fabricaciones que salen al mercado³⁸.

La industria cosmética debe cumplir varios parámetros de calidad en la elaboración de sus productos, entre otros: la Composición química, naturaleza física, origen y disponibilidad, uniformidad de lote, concentración de la materia usada en el producto, proceso de manufactura, historia de materia prima, condiciones de almacenamiento, agua validada y controlada².

Para garantizar la inocuidad y calidad de los productos cosméticos se pueden emplear ciertas técnicas de análisis microbiológico que nos van a determinar la ausencia, presencia y carga microbiana que contiene el producto².

Recuento de Mesófilos Aerobios: este recuento se considera como indicador del grado de contaminación y de la vida útil del producto².

NMP de Coliformes totales: indica la mala calidad higiénica, falta de higiene de manipuladores, y contaminación fecal².

Recuento de Mohos y Levaduras: estos son indicadores de contaminación ambiental, daño acumulativo por micotoxinas, además en este punto hay que resaltar que es de gran importancia la identificación de *Candida albicans*².

Prueba de Ausencia/Presencia de *Staphylococcus aureus*: esta prueba investiga la ausencia o presencia de *Staphylococcus aureus*, esta bacteria produce exotoxinas llamadas exfoliatinas, que causan descamación de la piel a nivel local y a distancia; Enfermedad de Ritter o Síndrome de piel Escaldada (SSS)².

Prueba Ausencia/Presencia de *Pseudomonas aeruginosa*: esta prueba nos indica ausencia o presencia de *Pseudomonas aeruginosa*, microorganismo de gran importancia que se adhiere a las células epiteliales mediante el pili y un polisacárido extracelular².

Prueba Ausencia/ Presencia de *Escherichia coli*: indicador de contaminación fecal².

Prueba Ausencia/ Presencia de *Burkholderia cepacia*: indicador de contaminación de agua.²

1.2.2.1 Límites microbiológicos de productos cosméticos

CTFA (the Cosmetics, Toiletry, and Fragrance Association)

Cuantitativos:

- Productos para bebés: menor de 100 UFC/g ó mL.
- Productos para el área de los ojos: menor de 100 UFC/g ó mL.
- Otros productos menor: de 1000 UFC/gr/mL.

Cualitativos:

- Ausencia de:

Staphylococcus aureus

Escherichia coli.

*Pseudomonas aeruginosa.*²⁴.

Límites microbianos de la comisión Europea.

Cuantitativos:

Define dos clases de productos cosméticos:

Categoría 1: productos dirigidos a niños menores de 3 años, área de los ojos y membranas mucosas, total de microorganismos aeróbicos mesófilos viables menos de 100 UFC/g ó mL en 0.5 g ó mL del producto.

Categoría 2: otros productos totales de microorganismos mesófilos viables menos de 1000 UFC/g ó mL en 0.1 g ó mL del producto.

Cualitativos:

Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus*, y *Candida albicans*, estos son considerados los principales patógenos en productos cosméticos²⁴.

1.2.3 Microorganismos patógenos de importancia en la industria cosmética.

Debido a que los cosméticos en su mayoría son producidos a partir de elementos con alto contenido nutricional, proporcionan las condiciones ideales para la proliferación de microorganismos. En la industria cosmética existen métodos para el control del desarrollo de dichos microorganismos entre los que se pueden nombrar, el uso de preservantes, manejo de materia prima, esterilización de instrumentos y ambientes de trabajo asépticos controlados, etc. Sin embargo, si la aplicación de estos métodos no cumple con las expectativas se producen pérdidas económicas para la industria cosmética y además el producto llega a ser un riesgo para el usuario.

Los cosméticos se aplican en piel, mucosas o anexos cutáneos. La piel y mucosas están protegidas en condiciones normales por la barrera mecánica de sus propias células superficiales y por otros mecanismos de defensa propios de ellas, entre los que se encuentran los componentes de sus secreciones (p. ej. enzimas de secreciones mucosas, ácidos grasos de la piel, etc.). Estas barreras pueden dañarse de varias formas, inclusive por lesiones provocadas por la acción de algunos cosméticos. Cuando la barrera cutáneo-mucosa se altera se facilita la infección microbiana. El riesgo de infección puede incrementarse cuando los cosméticos se aplican en piel o mucosas previamente dañadas, cuando se aplican en el área ocular o en las membranas mucosas, o cuando se aplican a niños menores de 3 años, a personas de edad avanzada, o a inmunocomprometidos que tienen una piel y mucosas debilitadas en comparación con los adultos sanos³³.

Independientemente de las infecciones, la microbiología de los cosméticos pretende detectar la contaminación microbiana que pueda alterar la conservación y cualidades del producto. Por lo que es necesario realizar habitualmente pruebas de control microbiológico de los cosméticos asegurando la calidad y la seguridad para el consumidor³³.

En las pruebas de evaluación de la contaminación microbiana, las recomendaciones incluyen como mínimo realizar el recuento de bacterias aerobias mesófilas y detectar la presencia de los patógenos de mayor riesgo potencial: *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Burkholderia cepacia* y *Pseudomonas aeruginosa*³³.

1.2.3.1 ***Staphylococcus aureus***.

Patógeno que normalmente vive en la piel y además en los pasajes nasales sin causar daño²².

Flora de operarios, indica manejo inadecuado en el proceso de elaboración del producto.

Características Generales:

Staphylococcus aureus es una bacteria esférica (coco), que puede encontrarse agrupada en pares, en cadenas cortas o en grupos en forma de racimos de uva. Estos organismos son Gram-positivos y algunas cepas producen una toxina proteica estable al calor que causa enfermedades en los humanos³³.

Taxonómicamente el género *Staphylococcus* pertenece a la familia *Staphylococcaceae*, la cual incluye tres géneros menos conocidos que son, *Gamella*, *Macrococcus* y *Salinicoccus*⁴⁶.

Características del cultivo:

- Colonia amarilla grande en medio nutritivo.
- A menudo hemolítica en agar sangre.
- Anaerobios facultativos, crecen por la respiración aerobia o por fermentación que produce ácido láctico principalmente.
- Catalasa-positivos.
- Oxidasa-negativa.
- T° de crecimiento: 15-45°C

- NaCl: hasta 15 %.
- La mayoría de cepas son coagulasa-positiva⁴⁶.

Enfermedades producidas por *Staphylococcus aureus*:

Los *Staphylococcus aureus* pueden causar infección cuando penetran la piel a través de una cortadura o una úlcera o cuando dichas bacterias ingresan al cuerpo a través de un catéter o un tubo de respiración. La infección puede ser menor y local (por ejemplo, un grano) o puede ser más seria²².

La mayoría de las infecciones por *Staphylococcus aureus* se presentan en personas con sistemas inmunitarios débiles, generalmente pacientes que se encuentran en hospitales y centros médicos de cuidados a largo plazo. Las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina son conocidas como infección por MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) un tipo de bacteria potencialmente peligrosa que es resistente a ciertos antibióticos y puede causar infecciones de la piel y de otro tipo^{21,22}.

Se propaga mediante el contacto directo con la infección de otra persona, tocando superficies o elementos contaminados con la bacteria o compartiendo objetos personales, que hayan tocado la piel infectada y está relacionada con cuidados médicos o intrahospitalaria ó sus siglas HA-MRSA (Hospital-acquired or healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*). Las personas que han sido hospitalizadas o que se han sometido a una cirugía dentro del último año tienen un alto riesgo de padecer esta afección, al igual que las personas que reciben ciertos tratamientos, tales como diálisis. Estas bacterias son responsables de un gran porcentaje de infecciones intrahospitalarias^{21,22}.

Durante los últimos años, se han incrementado las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en personas no consideradas de alto riesgo. Estas infecciones, conocidas como MRSA extrahospitalarias ó sus siglas CA-MRSA (community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), se presentan en

personas sanas que no tienen antecedentes de hospitalización en el último año. Muchas de estas infecciones han ocurrido entre atletas que comparten equipos o elementos personales (como toallas o máquinas de afeitarse) y niños en guarderías²².

Infecciones Cutáneas: normalmente provocan un área con enrojecimiento, inflamación y dolor en la piel. Otros síntomas pueden ser:

- Un absceso cutáneo
- Secreción de pus u otros líquidos del sitio
- Fiebre
- Calor alrededor del área infectada
- Hinchazón del sitio ^{21,22}.

Los síntomas de una infección más seria pueden ser:

- Erupción cutánea
- Dificultad para respirar
- Fiebre
- Escalofrío
- Dolor en el pecho
- Fatiga
- Dolores musculares
- Malestar general
- Dolor de cabeza ²².

Orzuelo (también conocido como hordeolum): Es una infección por estafilococos que afecta al párpado. Se desarrolla cuando las glándulas conectadas a la base de las pestañas se inflaman e irritan. Una persona con orzuelo generalmente notará una hinchazón rojiza, caliente, molesta y a veces dolorosa cerca del borde del párpado⁴⁵.

Impétigo: Es una infección cutánea superficial que ocurre con mayor frecuencia en los niños pequeños, aunque también se puede dar en adolescentes y adultos. La mayoría de las infecciones por impétigo afectan al rostro o a las extremidades, como

las manos y los pies. Una infección cutánea por impétigo empieza como una pequeña ampolla o granito y luego desarrolla una costra de color miel. El impétigo generalmente no ocasiona fiebre ni dolor, aunque las ampollas pueden provocar picazón y propagarse a otras partes del cuerpo a través del rascado⁴⁵.

Celulitis: Es una infección que afecta a la piel y a áreas de tejido ubicadas debajo de la superficie cutánea. Empieza como una reducida área de piel enrojecida, dolorosa, hinchada y caliente. Cuando esta área empieza a extenderse, la persona afectada puede experimentar malestar general y desarrollar fiebre. La celulitis puede darse en cualquier parte del cuerpo pero es más frecuente en las piernas⁴⁵.

1.2.3.2 *Candida albicans*.

Patógeno procedente de mucosas de operarios. Indica manejo inadecuado y falta de equipo personal de bioseguridad en el proceso de elaboración del producto.

Características generales:

Candida albicans, del latín candidus (blanco) y albicans, participio presente de albicare (que es blanca)¹⁶.

- Reino: Hongo
- División: Deuteromycota
- Clase: Blastomycetes
- Familia: *Cryptococcaceae*
- Género: *Candida*
- Especies: *albicans* (como la más frecuente y virulenta) y otras especies¹⁶.

El género *Candida* comprende más de 150 especies, cuya principal característica es la ausencia de forma sexual, con excepción de algunas especies micóticas. Son clasificadas como levaduras, las cuales corresponden a hongos con un modo de desarrollo predominantemente unicelular. Solamente una docena de las especies pertenecientes al Género *Candida* poseen la facultad de adaptarse a una

temperatura de 37°C y pueden ser ocasionalmente patógenas para los humanos, estas son entre otras: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida kefyr* (*pseudotropicalis*), *Candida krusei*, *Candida guilliermondi*, *Candida parakrusei*, *Candida zeylanoides*, *Candida stellatoidea* y *Candida brumptii*⁴³.

Candida albicans es un hongo que está presente en todos nosotros. Con frecuencia se encuentra en las membranas superficiales y en las mucosas; vive normalmente en la atmósfera vaginal, en pH ácido (5,0-4,0). En cantidades pequeñas es inofensiva pero cuando su crecimiento aumenta drásticamente puede afectar la salud^{27,28}.

Características del cultivo:

- Colonias de crecimiento rápido, circulares, lisas, blancas o cremosas, pastosas y blandas, de bordes precisos, centro ligeramente prominente, con olor a levadura¹⁶.
- Se presenta bajo condiciones de cultivo semianaeróbico o facultativo.
- Crece a 18-24 h a 30-37°C.

Enfermedades producidas por *Candida albicans*:

Candida albicans puede producir infecciones superficiales que afectan a piel, uñas y mucosas. Sin embargo, las candidiasis más graves (candidiasis diseminadas) se observan en personas inmunosuprimidas o con enfermedades subyacentes que predisponen a sufrir esta infección¹⁶.

La candidiasis superficial (cutánea o mucosa) se establece a consecuencia de un incremento de la población de *Candida* y del daño a la piel o al epitelio, que permite la invasión local por la levadura y las pseudohifas. La candidiasis sistémica se presenta cuando la *Candida* penetra al torrente sanguíneo y las defensas fagocíticas del huésped son inadecuadas para contener su crecimiento y diseminación. Desde la circulación la *Candida* puede infectar los riñones, fijarse a las prótesis valvulares cardíacas o producir infección candidiásica casi en cualquier parte. La histología local

de las lesiones cutáneas o mucocutáneas se caracteriza por reacción inflamatoria que varía desde abscesos piógenos hasta granulomas crónicos. Las lesiones contienen abundantes yemas de levaduras y pseudohifas. Después de la administración de antimicrobianos por vía oral, con frecuencia ocurre un gran incremento de la *Candida* en el intestino y puede penetrar a la circulación a través de la mucosa intestinal⁴.

Los factores de riesgo relacionados con la candidiasis superficial incluyen el SIDA, el embarazo, la diabetes, los extremos de la vida, anticonceptivos orales y el traumatismo (quemaduras, maceración de la piel)⁴.

Otras variantes de candidiasis cutánea incluyen invasión de la piel. Esto ocurre cuando la piel se debilita (traumatismo, quemadura y maceración). La infección intertriginosa ocurre en las partes húmedas y tibias del cuerpo como la axila, la ingle y los pliegues interglúteo o inframamario; es más común en personas obesas y en los diabéticos. Las partes infectadas se muestran rojas y húmedas y pueden presentar vesículas. La afección interdigital en los dedos aparece después de inmersión prolongada y repetida en el agua. La invasión de las uñas y alrededor de la placa ungueal por *Candida* produce onicomicosis, una inflamación dolorosa y eritematosa del pliegue ungueal parecida a la paroniquia piógena, la cual con el tiempo, puede destruir la uña⁴.

Candidiasis ocular: Una infección muy importante que puede conducir a la ceguera y porque sugiere inmediatamente la existencia de candidiasis diseminada, que siempre es difícil de demostrar⁴⁰.

1.2.3.3 Coliformes totales/*Escherichia coli*.

Coliformes totales son microorganismos indicadores de contaminación (no exclusivamente de contaminación fecal). Indican manejo inadecuado en el proceso de elaboración del producto y deficiencia en la esterilidad de la materia prima.

Escherichia coli es patógeno indicador de contaminación fecal. Indica manejo inadecuado, falta de equipo personal de bioseguridad en el proceso de elaboración del producto y deficiencia en la esterilidad de la materia prima

Características generales:

La denominación genérica coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos¹⁹.

Este grupo de especies bacterianas las podemos encontrar principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales¹⁹.

Los coliformes se introducen en gran número al medio ambiente por las heces de humanos y animales. Por tal motivo suele deducirse que la mayoría de los coliformes que se encuentran en el ambiente son de origen fecal. Sin embargo, existen muchos coliformes de vida libre¹⁹.

Tradicionalmente se los ha considerado como indicadores de contaminación fecal en el control de calidad del agua destinada al consumo humano en razón de que, en los medios acuáticos, los coliformes son más resistentes que las bacterias patógenas intestinales y porque su origen es principalmente fecal. Por tanto, su ausencia indica que el agua es bacteriológicamente segura. Asimismo, su número en el agua es proporcional al grado de contaminación fecal; mientras más coliformes se aíslan del agua, mayor es la gravedad de la descarga de heces¹⁹.

De tal manera son buenos indicadores de la calidad higiénica de los diferentes productos en los que el agua es un componente en su elaboración. El hallazgo de gran número de organismos en dichos productos y en el agua indica la polución o contaminación fecal. Ya que las enfermedades transmitidas por el agua

generalmente son de carácter intestinal la presencia de polución indica la posibilidad de que existan agentes etiológicos productores de estas enfermedades⁴⁸.

En general, las bacterias coliformes se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo³³.

El grupo coliforme está formado por los siguientes géneros:

- *Escherichia*
- *Klebsiella*
- *Enterobacter*
- *Citrobacter*

No todos los autores incluyen al género *Citrobacter* dentro del grupo coliforme^{19,30}.

Dentro del grupo de coliformes se encuentra *Escherichia coli*, la cual forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*, coloniza el tracto gastrointestinal a las pocas horas de vida del niño, y establece con el huésped una relación estable de mutuo beneficio. Como integrante de la flora normal del hombre y de muchos animales, se lo considera un germen indicador de contaminación fecal cuando está presente en el ambiente, agua y alimentos, junto con otros similares agrupados bajo la denominación de "bacterias coliformes"¹⁸.

Características del cultivo:

Las bacterias coliformes,

- Aerobias o anaerobias facultativas.
- Catalasa positivos.
- Oxidasa-negativas
- No esporógenas.

- Fermentan glucosa y lactosa con producción de ácido y gas a 37 °C en un tiempo máximo de 48 horas³⁰.
- Capaces de crecer en agar MacConkey y en medios simples con o sin agregado de NaCl
- Fermentadores y oxidativos en medios con glucosa u otros carbohidratos.
- Reductores de nitratos a nitritos¹⁸.

Escherichia coli,

- Colonias lisas, circulares, convexas, con bordes bien diferenciados.
- Reacciones positivas para el indol, lisina descarboxilasa y fermentación del manitol.
- Produce gas a partir de la glucosa.
- Mas del 90% de las colonias aisladas son positivas para β glucuronidasa con el empleo del sustrato 4-metilumbeliferil- β -glucurónido (MUG)⁴.

Enfermedades producidas por *Escherichia coli*

La mayoría de las *Escherichia coli* son inofensivas. Sin embargo, algunos tipos pueden producir enfermedades y causar diarrea. *Escherichia coli* enterotoxigénica causa la diarrea del viajero. *Escherichia coli* enterohemorrágica causa una diarrea hemorrágica y a veces puede causar insuficiencia renal y hasta la muerte. Estos problemas tienen más probabilidades de ocurrir en niños y en adultos con sistemas inmunológicos debilitados³⁹.

Se pueden adquirir infecciones por *Escherichia coli* al consumir alimentos que contienen la bacteria. También se puede adquirir la infección al beber accidentalmente agua en una piscina contaminada con desechos humanos³⁹.

1.2.3.4 *Burkholderia cepacia*.

Patógeno procedente de ambientes acuáticos, suelos y en relaciones simbióticas con otros microorganismos, animales y plantas¹⁴. Indica manejo inadecuado en el proceso de elaboración del producto y deficiencia en la esterilización de la materia prima.

Características generales:

Burkholderia cepacia, es un bacilo Gram-negativo recto o ligeramente curvo. No forma esporas y son móviles con 1 o más flagelos polares, tienen requerimientos nutricionales mínimos. Fue identificado en 1950 por Burkholder como un agente fitopatógeno responsable de la podredumbre de los bulbos de cebolla. Fue originalmente asignado al género *Pseudomonas* como *Pseudomonas cepacia*, recibiendo a lo largo del tiempo otras denominaciones como *Peudomonas multivorans* y *Pseudomonas kingii*^{14,41}.

Su capacidad metabólica, capacidad de formar biofilms y resistencia a antimicrobianos, la hacen uno de los mayores problemas microbiológicos a los que la industria cosmética se enfrenta²⁰.

Poseen un genoma complejo, formado por varios replicones, que le proporciona una extraordinaria versatilidad metabólica y capacidad de adaptación a nuevos ambientes¹⁴.

El empleo de técnicas moleculares ha puesto de relieve la complejidad taxonómica de *Burkholderia cepacia*, denominándolo Complejo *Burkholderia cepacia* (CBc), el cual incluye más de 20 especies o genomovares. *Burkholderia cepacia* no es un microorganismo único sino un conjunto de microorganismos Gram-negativos, el cual está formado por cepas fenotípicamente similares pero genéticamente diferentes^{14,20}.

En la microbiología cosmética existe el llamado “Fenómeno Phoenix”, que algunos autores consideran está relacionado a la poca sensibilidad de métodos microbiológicos tradicionales en detectar microorganismos presentes en los

cosméticos, debido al alto contenido de preservantes en la muestra a analizar y otros por la capacidad de adaptación de ciertas especies bacterianas²⁰.

Es importante liberar un producto cosmético con niveles bajos permitidos de *Burkholderia cepacia*, ya que es muy probable que debido a las características de adaptación que posee, esta se desarrolle en el producto durante su almacenamiento ó uso, causando pérdidas económicas y alto riesgo para el usuario.

Características del cultivo:

- No fermentador.
- Generalmente catalasa y oxidasa positiva.
- Aerobio, aunque algunas cepas pueden crecer bajo condiciones anaeróbicas.

Enfermedades producidas por *Burkholderia cepacia*

Burkholderia cepacia no forma parte de la flora normal en humanos pero se la encuentra a menudo como un agente patógeno oportunista asociado a brotes nosocomiales¹⁴.

En hospitales, *Burkholderia cepacia* se ha aislado de una gran variedad de fuentes acuosas y ambientales a partir de las cuales la bacteria se transmite a los pacientes. Se ha asociado con infecciones pulmonares graves en pacientes con enfermedad fibroquística, puesto que son vulnerables y pueden ser portadores asintomáticos o sufrir deterioro progresivo durante algunos meses, hasta deterioro de rápida evolución con neumonía necrosante y bacteriemia significativa, también se ha encontrado en recién nacidos de pretérmino que requieren hospitalización prolongada y en infección en niños con enfermedad granulomatosa crónica, hemoglobinopatías o neoplasias malignas, de heridas, infecciones urinarias y neumonía^{4,41}.

1.2.3.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Patógeno procedente de suelo, agua, plantas y animales⁴. Su presencia indica manejo inadecuado en el proceso de elaboración del producto y deficiencia en la asepsia de la materia prima.

Características generales:

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo dotado de motilidad mide casi 0.6 x 2 µm. Es Gram-negativo, se la encuentra en pares y ocasionalmente en cadenas cortas. En cultivo puede producir múltiples tipos de colonias y da la impresión de un cultivo de especies bacterianas mixtas. *Pseudomonas aeruginosa* da colonias de diferente tipo también puede presentar actividades enzimáticas y bioquímicas diferentes y distintos patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos⁴.

Características del cultivo:

- Es aerobio obligado que crece fácilmente sobre muchos tipos de medio de cultivo, a veces produce un olor dulzón semejante a jugo de uva o de maíz.
- Algunas cepas causan hemólisis.
- Colonias redondas y lisas de color verde fluorescente. Con frecuencia produce piocianina, un pigmento azulado no fluorescente que difunde en agar. Muchas cepas también producen pioverdina, el pigmento fluorescente que confiere color verdoso al agar. Algunas cepas producen pioverdina, pigmento rojo oscuro piorrubina o piomelanina, pigmento negro⁴.
- Crece bien de 37 a 42°C; su crecimiento a 42°C ayuda a diferenciarla de otras especies de *Pseudomonas* en el grupo fluorescente.
- Oxidasa-positiva.
- No fermenta los carbohidratos, pero muchas cepas oxidan la glucosa.

Enfermedades producidas por *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa solo es patógena cuando se introduce en regiones desprovistas de defensas normales, por ejemplo, mucosas y piel lesionadas por daño tisular directo; el empleo de catéteres intravenoso o urinario; o cuando hay neutropenia, como en la quimioterapia contra el cáncer. Las bacterias se unen a las mucosas o la piel y las colonizan, invaden localmente y producen enfermedad sistémica. Estos procesos se favorecen por pili, enzimas y toxinas. El lipopolisacárido desempeña una función directa en la génesis de la fiebre, choque, oliguria, leucocitosis y leucopenia, coagulación intravascular diseminada y síndrome de insuficiencia del adulto⁴.

Pseudomonas aeruginosa produce infección en heridas y quemaduras formando pus de color azul verdoso. Cuando se introduce por punción lumbar causa meningitis, cuando la vía de entrada son catéteres, instrumentos o soluciones irrigantes causa infección del aparato urinario. La afección del aparato respiratorio, en especial por aparatos respiradores contaminados, produce neumonía necrosante. Esta bacteria se observa con frecuencia en la otitis externa leve de los nadadores y en pacientes diabéticos puede producir otitis externa invasora (maligna). La infección del ojo, que puede conducir a la destrucción rápida de ese órgano, ocurre con mayor frecuencia después de procedimientos y lesiones quirúrgicas. En la mayor parte de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* los síntomas y signos son inespecíficos y se relacionan con el órgano afectado. En ocasiones se puede detectar verdoglobina (producto del desdoblamiento de la hemoglobina) o un pigmento fluorescente en las heridas y en la orina, mediante fluorescencia ultravioleta. En la septicemia causada por *Pseudomonas aeruginosa* casi siempre hay necrosis hemorrágica de la piel; la lesión, denominada ectima gangrenoso, está rodeada por eritema y con frecuencia no contiene pus⁴.

1.2.3.6 Infecciones oculares producidas por los diferentes microorganismos patógenos.

Las infecciones oculares pueden ocurrir en cualquier área del ojo. El agente etiológico varía según el área causando conjuntivitis, queratitis o infecciones externas (piel, glándulas, etc.)^{26,36}.

1.2.3.6.1 Infecciones de los párpados y tejido alrededor del ojo:

Blefaritis: La enfermedad se debe a reacciones alérgicas a ácaros residentes en los folículos de las pestañas. Es concomitante con seborrea de las cejas, cuero cabelludo, tórax. Se produce invasión bacteriana en los folículos de las pestañas con formación de abscesos alrededor de estos, produciendo su destrucción y la caída de pestañas y formación de úlceras. Seguidamente aparece hordeola y chalazión. Al microscopio se observa infiltración de linfocitos, hiperemia, acantosis, parakeratosis y descamación.

Agente etiológico: *Demodex folliculorum* seguido de infección por *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*³⁶.

Hordeola y Chalazión: La obstrucción del orificio de la glándula aparece como el primer evento en la formación de hordeola. Se desarrolla un nódulo rojo bastante doloroso rodeado de tejido amarillento a medida que la lesión madura, la histopatología es típica de inflamación supurativa aguda.

Chalazión evoluciona de la hordeola que no supura espontáneamente, hay inflamación crónica persistente, la formación de granuloma puede ocurrir al aumentar las secreciones sebáceas.

Agente etiológico: Generalmente *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus sp*³⁶.

Celulitis periorbital: Es una infección secundaria a infecciones de estructuras contiguas como: sinusitis paranasal, osteomielitis de los huesos faciales, conjuntivitis,

infecciones dentales. Edema e hiperemia de los tejidos orbitales puede ser intensa, y estar asociada con la acumulación de exudado y focos de necrosis.

Agente etiológico: *Staphylococcus aureus*³⁶.

Dacriocistitis aguda: Es la infección del saco lacrimal, secundario a la obstrucción del conducto lacrimal. El aparato lacrimal tiene dos funciones: Las glándulas lacrimales producen el componente acuoso de las lágrimas, y el saco lacrimal junto a otras estructuras es el responsable del drenaje de las lágrimas desde la conjuntiva a la cavidad nasal. Los procesos patológicos de estas estructuras resultan en disminución de lágrimas y obstrucción del conducto lacrimal. El mayor síntoma es dolor en el área del saco lacrimal, eritema, y descarga purulenta. Dacriocistitis ya sea crónica o aguda debe considerarse un reservorio peligroso de infección y debe descartarse antes de cualquier cirugía.

Agentes etiológicos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Candida albicans*, *Aspergillus sp.*, *Actinomyces sp*³⁶.

1.2.3.6.2 Infecciones de la conjuntiva

Conjuntivitis bacteriana: El "ojo rojo" es uno de los síntomas más frecuentes visto en la consulta de atención primaria. También denominada conjuntivitis purulenta. Es menos común que la conjuntivitis viral. En la mayoría de los casos es de comienzo agudo caracterizándose por presentarse con un exudado purulento uni o bilateral, con edema²⁶.

1.2.3.6.3 Infecciones de la córnea

Keratitis y keratoconjuntivitis Enfermedades de la córnea que producen reacciones tóxicas intraoculares en la forma de hipopion e iritis, los cuales de no ser tratados pueden producir perforación corneal y pérdida de la visión. Un gran número de factores pueden llevar a formar úlceras en la córnea incluyendo la falta de lágrimas, trauma, lentes de contacto de uso prolongado, enfermedad herpética de la córnea,

los esteroides producen efecto colagenolítico que destruye la matriz de la córnea y disminuyen la respuesta inmune.

Dolor, congestión, hipopion, iritis, fotofobia, aumento de la secreción lacrimal, son los síntomas típicos, la severidad varía según el agente y la velocidad de la ulceración.

Agentes etiológicos: *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus sp.* *Neisseria sp.* *Corynebacterium sp.*, *Haemophilus sp.*, *Chlamydia trachomatis*, virus y hongos^{26,36}.

1.2.3.6.4 Infecciones Intraoculares

Endoftalmitis: Los signos más comunes son: dolor ocular, visión disminuída, cefalea y fotofobia, inyección conjuntival, edema de los párpados, hipopion, células presentes en el humor vítreo o acuoso.

Agentes etiológicos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* (posterior a implantación de lentes), *Bacillus cereus* (posterior a trauma), *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* (endógeno o metastásico)³⁵.

1.2.4 Control de calidad de medios de cultivo.

Un laboratorio de microbiología debe contar con cultivos de referencia, a fin de certificar o conservar la acreditación de un ensayo, como pueden ser cultivos con cepas nativas, las cuales son utilizadas para demostrar, que los medios poseen características aceptables, para validar métodos, la evaluación de los medios de cultivo, control de calidad interno durante la evaluación de los ensayos, para las pruebas confirmatorias y para controlar que se mantengan sus características.

Una cepa nativa es aquella obtenida localmente y cultivada en un laboratorio microbiológico, la cual debe cumplir con los siguientes requisitos:

- Viabilidad: las células microbianas sean capaces de crecer.
- Pureza: ser cultivo puro.

En el momento de la manipulación y conservación se debe prevenir:

- El deterioro de las cepas,
- La contaminación cruzada.,
- Las mutaciones,
- Deterioro o alteración de las características típicas de las cepas.

Se conservan utilizando técnicas que mantengan las características deseadas.

CAPÍTULO II

2.1 MATERIALES Y METODOLOGÍA

2.1.1 Localización

Para los ensayos de la fase experimental se utilizaron las instalaciones de los laboratorios de docencia de la carrera de Licenciatura en Microbiología Clínica y Aplicada de la Escuela de Bioanálisis de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, como también los diferentes equipos pertenecientes a las instalaciones mencionadas.

2.1.2 Localización de las muestras

El estudio se desarrolló con productos elaborados artesanalmente de venta libre que se expenden en el centro de la ciudad de Quito, correspondientes a dos locales de expendio:

- Fabricante 1
- Fabricante 2

Las fotografías de cada una de las muestras se las puede observar en el Anexo 4.

2.1.3 Nomenclatura de las muestras

Las muestras analizadas fueron codificadas con una nomenclatura específica como se detalla en la Tabla1.

Tabla 1. Nomenclatura de las muestras

Muestras	Código asignado
Colirio	M1
Loción facial agua de rosas	M2
Crema baba de caracol	M3
Crema nutritiva	M4
Mascarilla	M5
Loción para hongos	M6
Agua de rosas	M7
Loción para acné	M8
Crema de miel de abejas	M9
Crema nutritiva	M10

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

2.1.4 Materiales

Para la incubación, procesamiento y almacenamiento de las muestras se emplearon los siguientes equipos de docencia del laboratorio de Microbiología de Alimentos:

- Estufa a 35-37 °C.
- Baño María.
- Mechero
- Refrigeradora

Para el procesamiento de las muestras se trabajó con los reactivos de la casa comercial MICROKIT y su línea COSMETIKIT, la cual ofrece un test completo y específico dirigido a la industria cosmética como se observa en la Figura 1. Estos reactivos cumplen con los estándares de validación de la Norma UNE-EN-ISO 16140:2003. El material que nos proporcionó la casa comercial MICROKIT se mantuvo en un lugar fresco y seco, a temperatura ambiente (temperatura requerida). Su contenido es el siguiente:

- 20 Jeringas 20ml estériles (sin aguja)

- 20 Pipetas Pasteur estériles.
- 20 Frascos 90ml con perlas para tratamiento de la muestra [LPT (Letheen Neutralizing Broth) Broth Incoloro].
- 20 Tubos para recuento total [LPT(Letheen Neutralizing Broth) Neutralizing Agar Purple]
- 20 Tubos para levaduras y mohos [Rosa Bengala CAF (Chloranfenicol) agar]
- 20 Tubos para *Pseudomonas aeruginosa* (Cetrimide Agar).
- 20 Tubos para *Escherichia coli* y demás Coliformes [MUG (4-metilumbeliferil- β -glucurónido) PLUS Cfs.Agar].
- 20 Tubos para *Staphylococcus aureus* (Mannitol Salt Agar).
- 20 Tubos inclinados para *Candida albicans* (Biggy Agar).
- 20 Tubos para *Burkholderia cepacia* (BCPT Agar)
- 120 Placas Petri estériles de 90 mm.

Figura 1. Contenido COSMETIKIT



Tomada de Técnica COSMETIKIT

De la misma manera se empleó los siguientes utensilios y material de desinfección:

- Tego 51 al 2%
- Alcohol al 70%
- Hipoclorito al 1%
- Toallas absorbentes

2.1.5 Cepas nativas usadas para control de medios.

Las cepas nativas usadas se obtuvieron del cepario de la Escuela de Bioanálisis (Anexo 5), su manejo es detallado en el Esquema 1.

Esquema 1. Esquema de procesamiento de cepas nativas.



Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

En la Tabla 2 se enlista y se menciona la nomenclatura utilizada para la identificación de las cepas nativas empleadas en el procedimiento

Tabla 2. Listado y nomenclatura de cepas nativas.

Cepas	Código asignado
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Psa
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sa
<i>Candida albicans</i>	Ca
<i>Escherichia coli</i>	Ec
<i>Burkholderia cepacia</i>	Bc

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

2.1.6 Calibración del material

Para garantizar la veracidad de los resultados del estudio se realizó la respectiva calibración y monitoreo de la temperatura de la incubadora para así asegurar su buen funcionamiento, además se registro la temperatura ambiente. Ver Anexo 6.

Para garantizar la calidad y especificidad de los diferentes medios, se realizó pruebas de control empleando cepas nativas como se detalla en la Tabla 3 y cuyas fotografías se pueden observar en el Anexo 7.

Tabla 3. Control de calidad de medios.

	Mannitol Agar (<i>Staphylococcus aureus</i>)		Biggy Agar (<i>Candida albicans</i>)		Mugplus Agar (coliformes/ <i>Escherichia coli</i>)		BCPT Agar (<i>Burkholderia cepacia</i>)		Cetrimide Agar (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+								
<i>Candida albicans</i>			+	+						
<i>Escherichia coli</i>					+	+				
<i>Burkholderia cepacia</i>							+	+		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>									+	+

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

2.1.7 Protocolo de trabajo

Las muestras fueron adquiridas de forma directa en los lugares de expendio correspondientes.

2.1.7.1 *Transporte*

Las muestras fueron transportadas en un cooler con el debido cuidado, manteniéndolas a la temperatura adecuada para evitar sobre crecimiento de algunos microorganismos.

2.1.8 Desinfección y bioseguridad

Se trabajó con medidas óptimas de asepsia para así evitar errores en el manejo de las muestras y la obtención de resultados. Además se cuidó la bioseguridad de los analistas, como se observa en la Figura 2, se trabajó con los siguientes materiales:

- Mandil
- Guantes
- Mascarillas desechables
- Gorros desechables
- Zapatos desechables

Figura 2. Equipo de protección personal.



Tomada por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

2.1.9 Material de desecho

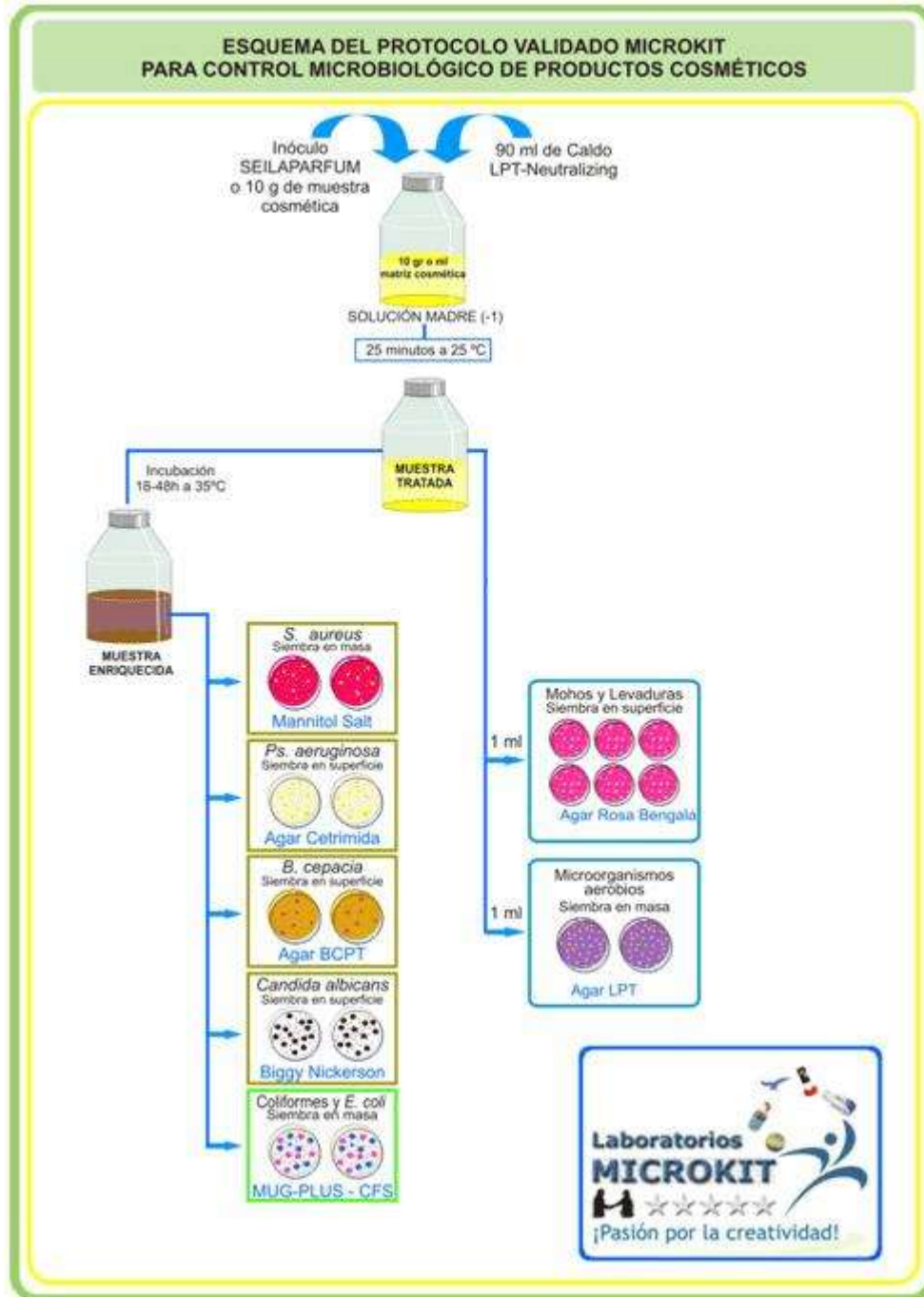
Con el fin de asegurar la bioseguridad y el correcto manejo de los desechos biopeligrosos, estos fueron autoclavados previamente a su eliminación.

2.1.10 Procesamiento de las muestras

2.1.10.1 *Siembra de muestras*

En el laboratorio se sembraron las muestras previamente tratadas y recién agitadas, siguiendo las instrucciones del inserto de la casa comercial como se ve en el Esquema 2. En el procesamiento se trabajó con controles para lo cual se usaron cepas nativas de control que fueron consideradas como una muestra más y tratadas de la misma manera que las muestras del estudio.

Esquema 2. Esquema de Procesamiento de Muestras



Tomado de Laboratorios Microkit

Se realizó siembras como indica el procedimiento de la técnica en cajas Petri estériles en profundidad y superficie y en tubos inclinados, en la Tabla 4 se detalla el

tiempo, temperatura y tipo de siembra correspondiente a cada prueba de identificación para los diferentes microorganismos analizados.

Tabla 4. Tiempo, temperatura y tipo de siembra de microorganismos analizados.

Microorganismo	Temperatura °C	Tiempo	Siembra
Mesófilos aerobios	35	5 días/Oscuridad	Profundidad
Mohos y levaduras	20-25	5días/Oscuridad	Profundidad
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35	72horas	Superficie
<i>Staphylococcus aureus</i>	35	72horas	Profundidad
<i>Candida albicans</i>	35	72horas	Tubos inclinados
<i>Escherichia coli</i>	35	72horas	Profundidad
<i>Burkholderia cepacia</i>	35	72horas	Superficie

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Se sembró además en superficie otras placas de LPT (Lethen Neutralizing Broth) agar con las muestras enriquecidas (48h de incubación), con el fin de aumentar la sensibilidad para cepas estresadas, que podrían no crecer en los medios selectivos. Se las incubó por 48 horas a 35°C.

2.1.11 Interpretación de resultados

Después del periodo de incubación correspondiente, se realizó la lectura de resultados, para lo cual se uso la guía de la casa comercial. La Tabla 5, describe la interpretación de resultados y características de las colonias para las pruebas de recuento de mohos y levaduras, y el recuento total de mesófilos aerobios. La Tabla 6, muestra la interpretación de resultados y características de las colonias para las pruebas de identificación de patógenos.

Tabla 5. Tabla de interpretación de resultados para recuento de Mohos y Levaduras y recuento total de Mesófilos aerobios.

Microorganismos	Medio de Cultivo	Características de las Colonias	Interpretación
Mohos y Levaduras	Rosa Bengala CAF (Chloranfenicol) agar	Levaduras: colonias convexas Mohos: colonias filamentosas	<u>Acceptable:</u> $\leq 10 \times 10^1$ UFC/g ó mL <u>No Aceptable:</u> $> 10 \times 10^1$ UFC/g ó mL
Mesófilos aerobios	LPT (Lethen Neutralizing Broth) Neutralizing Agar Purple	Recuento total (todo tipo de colonia)	<u>Acceptable:</u> $\leq 10 \times 10^1$ UFC/g ó mL <u>No Aceptable:</u> $> 10 \times 10^1$ UFC/g ó mL

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Tabla 6. Tabla de interpretación de resultados para pruebas específicas de patógenos.

Microorganismos	Medios de Cultivo	Características de la Colonia	Interpretación
<i>Staphylococcus aureus</i>	Mannitol Salt Agar Cfs. Agar	Colonias amarillas	<u>Acceptable:</u> Ausencia <u>No acceptable:</u> Presencia
<i>Candida albicans</i>	Biggy Agar	Colonias pardas. Sin provocar viraje de color del medio a pardo-negro.	<u>Acceptable:</u> Ausencia <u>No acceptable:</u> Presencia
Coliformes totales/ <i>Escherichia coli</i>	MUG (4-metilumbeliferil- β -glucuronido) PLUS	Coliformes totales: colonias rosas. <i>Escherichia coli</i> : colonias azules.	<u>Acceptable:</u> Ausencia <u>No acceptable:</u> Presencia
<i>Burkholderia cepacia</i>	BCPT Agar	Colonias blancas o salmón con viraje de color del medio a fucsia.	<u>Acceptable:</u> Ausencia <u>No acceptable:</u> Presencia
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cetrimide Agar	Colonias amarillas-verdosas ó pardo-rojizas.	<u>Acceptable:</u> Ausencia <u>No acceptable:</u> Presencia

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

CAPÍTULO III

3.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron muestras de dos fabricantes del centro de la ciudad de Quito, a los cuales se los denominó como “Fabricante 1” y como “Fabricante 2” respectivamente. En seguida se describe los resultados obtenidos y discusión.

3.1.1 Fabricante 1

3.1.1.1 Condiciones de expendio.

Los productos provenientes del Fabricante 1 se obtuvieron directamente en el lugar de expendio. Las siguientes características fueron registradas para dichos productos:

- Temperatura ambiente.
- Envase plástico.
- Tapa plástica.
- Etiqueta del producto:
 - Nombre del producto.
 - Sin sello del fabricante.
 - Sin fecha de elaboración.
 - Sin fecha de caducidad.

En el Anexo 4 se observan las imágenes de cada una de las muestras.

3.1.1.2 Tablas de Resultados.

Se procesó cada una de las muestras correspondientes al Fabricante 1, siguiendo las instrucciones del inserto de la casa comercial como se indicó en el Esquema 2. Los resultados obtenidos son detallados en las tablas 7y 8.

Tabla 7. Resultados de Mesófilos aerobios, Mohos y Levaduras de las muestras analizadas del Fabricante 1.

	Mohos y Levaduras (Rosa bengala Agar)		Mesofilos aerobios (LPT Agar)	
	3 días	5 días	3 días	5 días
M1	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml
M2	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml	106 UFC/ml
M3	<100 UFC/g	<100 UFC/g	<100 UFC/g	<100 UFC/g
M4	<100 UFC/g	<100 UFC/g	<100 UFC/g	<100 UFC/g
M5	<100 UFC/g	<100 UFC/g	<100 UFC/g	<100 UFC/g

UFC: unidades formadoras de colonias

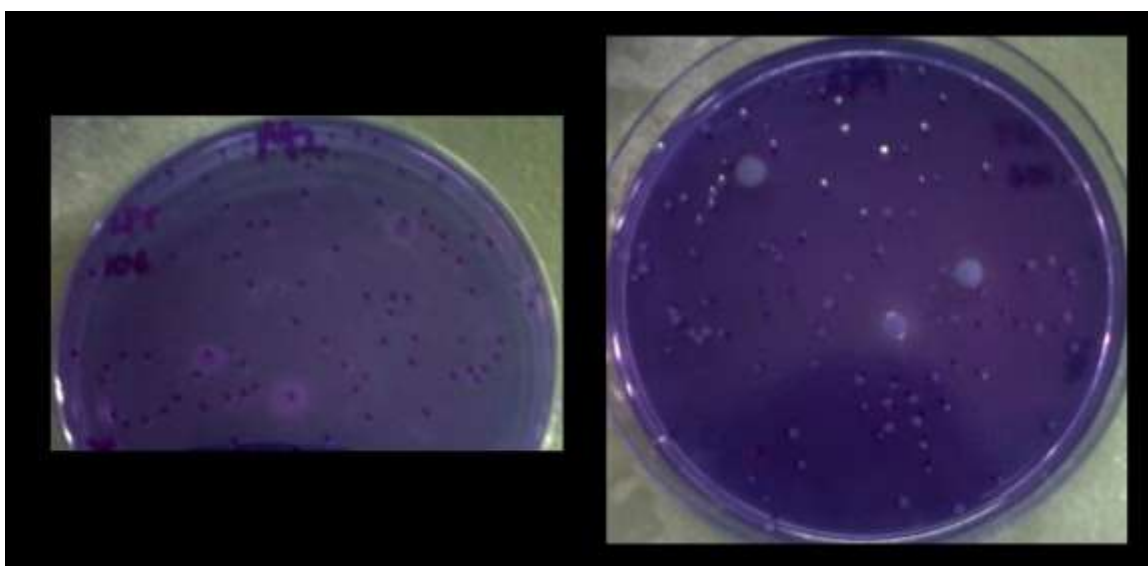
Rosa Bengala: ROSA BENGALA CHLORANFENICOL AGAR

LPT: Lethen Neutralizing Broth.

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Al obtener los resultados después de los 3 y 5 días de incubación en oscuridad, no se evidenció crecimiento en el parámetro para mohos y levaduras, en el parámetro para mesófilos aerobios para las muestras 1, 3, 4 y 5 no se obtuvo crecimiento ver Anexo 8, sin embargo en la muestra 2 se evidenció un crecimiento de 106 UFC/ml a los 5 días de incubación lo cual nos indica un crecimiento elevado ver Figura 3.

Figura 3. Muestra 2. LPT (Lethen Neutralizing Broth) Agar para Mesófilos aerobios.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Tabla 8. Resultados de patógenos de las muestras analizadas del Fabricante 1

	<i>Staphylococcus aureus</i> (Mannitol Agar)		<i>Candida albicans</i> (Biggy Agar)		Coliformes/ <i>Escherichia coli</i> (Mugplus Agar)		<i>Burkholderia cepacia</i> (BCPT Agar)		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Cetrimide Agar)	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
M1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
M2	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
M3	+	+	+	+	-	ct+	-	-	-	-
M4	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
M5	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-

+ Presencia de Crecimiento

- Ausencia de Crecimiento

ct: coliformes totales

Manitol: MANNITOL SALT AGAR

Biggy: BIGGY NICKERSON CANDIDA AGAR

Mugplus: MUG PLUS MICROKIT CROMOGENIC AGAR

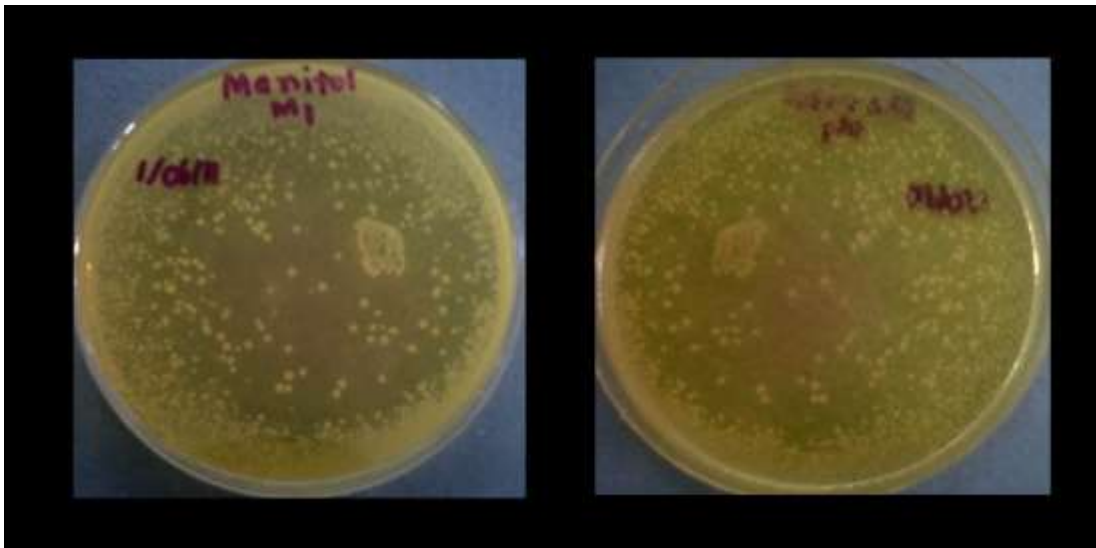
BCPT: *Burkholderia cepacia* BCPT AGAR BASE

Cetrimide: CETRIMIDE AGAR

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Al obtener los resultados después de las 24h y 48h de incubación de la muestra 1, se evidenció considerable crecimiento en los medios Mannitol Agar y Biggy Agar específicos para la identificación de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* correspondientemente ver Figuras 4 y 5. Sin embargo no se evidenció crecimiento en los demás medios específicos ver Anexo 8.

Figura 4. Muestra 1 Mannitol Agar para *Staphylococcus aureus*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

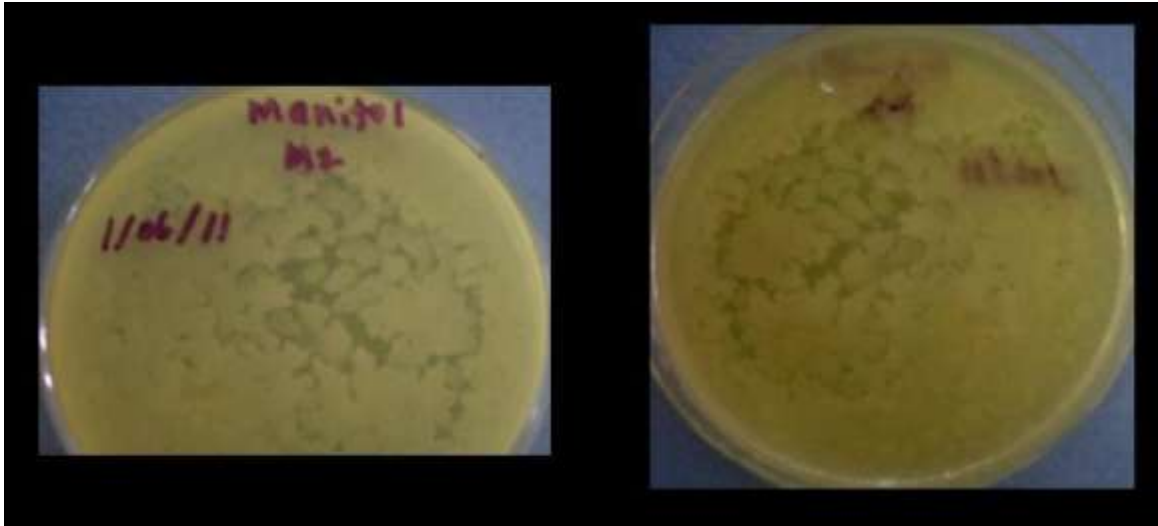
Figura 5. Muestra 1 Biggy Agar para *Candida albicans*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Al obtener los resultados después de las 24h y 48h de incubación de la muestra 2, se evidenció considerable crecimiento en los medios Mannitol Agar, Biggy Agar y BCPT (*Burkholderia cepacia* BCPT AGAR BASE) Agar específicos para la identificación de *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Burkholderia cepacia* correspondientemente ver Figura 6, 7 y 8. Sin embargo no se evidenció crecimiento en los demás medios específicos ver Anexo 8.

Figura 6. Muestra 2, Mannitol Agar para *Staphylococcus aureus*.



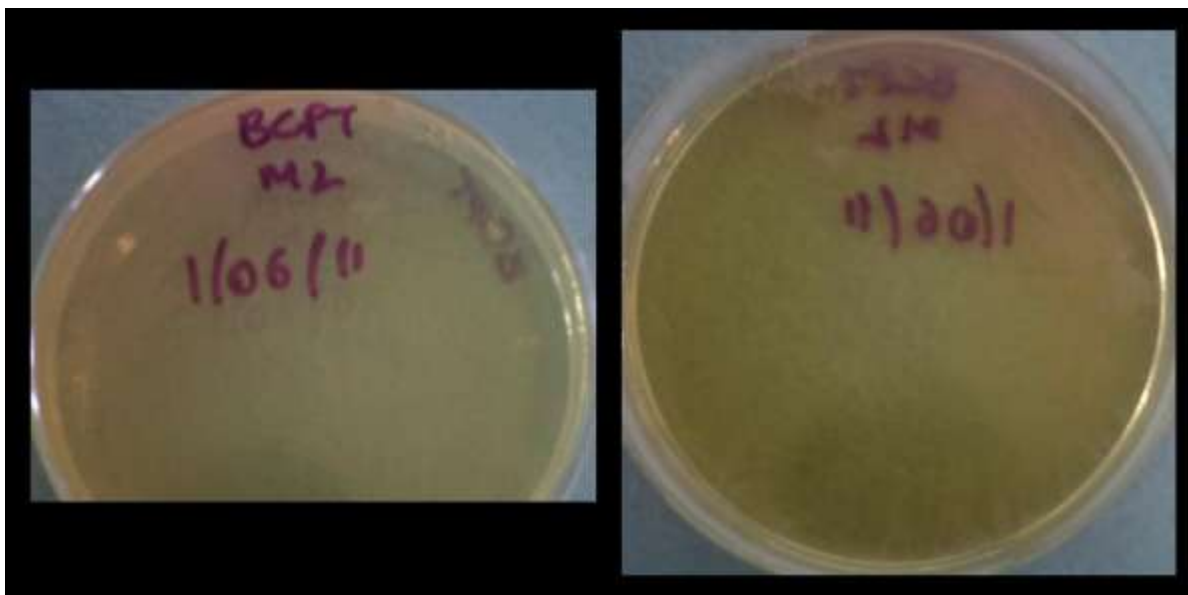
Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Figura 7. Muestra 2, Biggy Agar para *Candida albicans*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

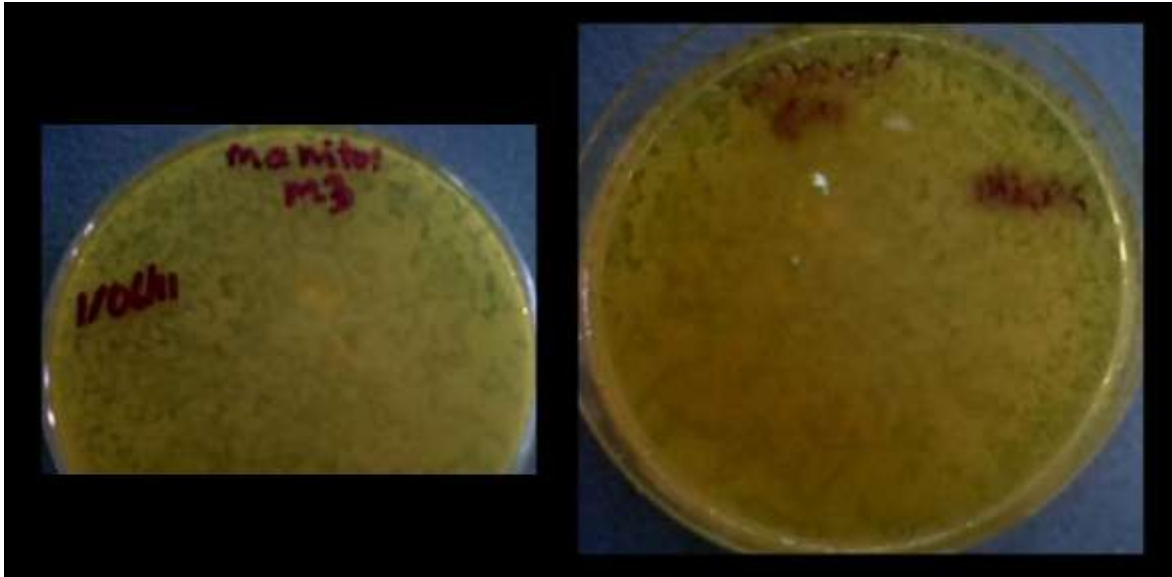
Figura 8. Muestra 2, BCPT (*Burkholderia cepacia* BCPT AGAR BASE) para *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Después de las 24h y 48h de incubación de la muestra 3, se evidenció considerable crecimiento en los medios Mannitol Agar y Biggy Agar específicos para la identificación de *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* correspondientemente ver Figuras 9 y 10. A las 48h de incubación en Mugplus Agar se obtuvo crecimiento para coliformes totales ver Figura 11. Sin embargo no se evidenció crecimiento en los demás medios específicos ver Anexo 8.

Figura 9. Muestra 3, Mannitol Agar para *Staphylococcus aureus*.



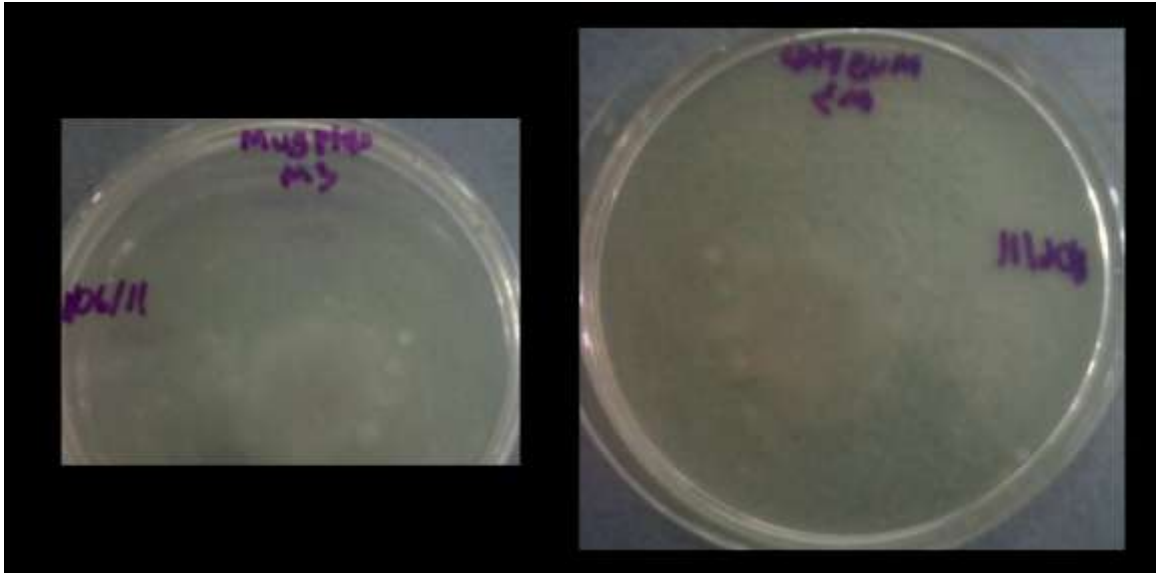
Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Figura 10. Muestra 3, Biggy Agar para *Candida albicans*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Figura 11. Muestra 3, Mugplus Agar para Coliformes totales/*Escherichia coli*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Luego de las 24h y 48h de incubación de la muestra 4, se evidenció considerable crecimiento en el medio Biggy Agar para la identificación de *Candida albicans* ver Figura 12. Sin embargo no se evidenció crecimiento en los demás medios específicos ver Anexo 8.

Figura 12. Muestra 4, Biggy Agar para *Candida albicans*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Al observar los resultados después de las 24h y 48h de incubación de la muestra 5, se evidenció considerable crecimiento en el medio Biggy Agar para la identificación de *Candida albicans* ver Figura 13. Sin embargo no se evidenció crecimiento en los demás medios específicos ver Anexo 8.

Figura 13. Muestra 5, Biggy Agar para *Candida albicans*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Con el fin de aumentar la sensibilidad para cepas estresadas, que podrían no crecer en los medios selectivos se sembró en superficie placas de LPT (Lethen Neutralizing Broth) Agar con las muestras enriquecidas (48h de incubación) y se las incubó por 48 horas a 35°C. En la tabla 9 se describen los resultados obtenidos.

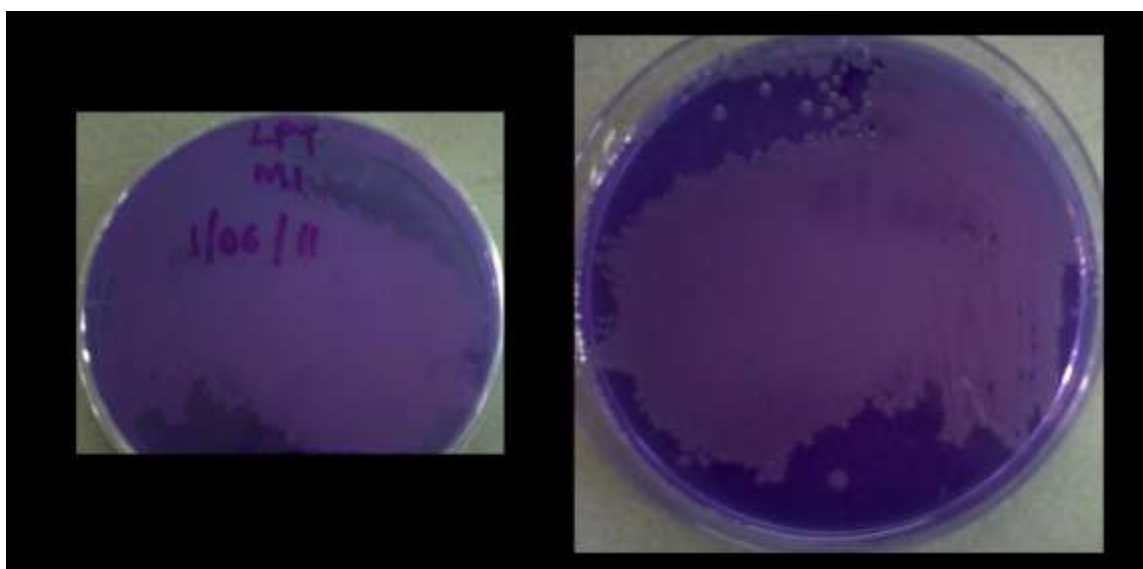
Tabla 9. Resultados LPT (Lethen Nutralizing Broth) Agar con muestras enriquecidas del Fabricante 1 después de 48h de incubación.

Tipos de Colonias (LPT Agar)	
48h	
M1	2 tipos de colonia
M2	3 tipos de colonia
M3	2 tipos de colonia
M4	No crecimiento
M5	2 tipos de colonia

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

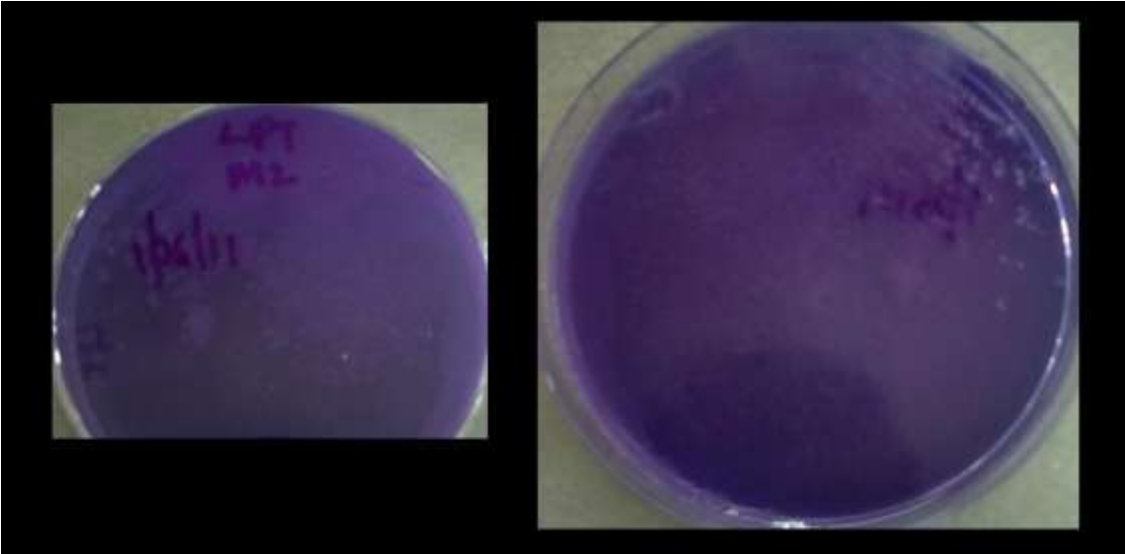
Al obtener los resultados después de las 48h de incubación, se evidenció considerable crecimiento de varios tipos de colonias en las muestras 1, 2, 3 y 5 ver Figuras 14, 15, 16 y 17. Estas colonias concuerdan con los resultados obtenidos en las pruebas específicas para la identificación de patógenos. Sin embargo, no se evidenció crecimiento en la muestra 4 ver Anexo 8.

Figura 14. Muestra 1 preenriquecida en LPT (Lethen Neutralizing Broth) Caldo



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Figura 15. Muestra 2 preenriquecida en LPT (Letheen Neutralizing Broth) Caldo.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Figura 16. Muestra 3 preenriquecida en LPT (Letheen Neutralizing Broth) Caldo



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Figura 17. Muestra 5 preenriquecida en LPT (Lethen Neutralizing Broth) Caldo



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

3.1.2 Fabricante 2

3.1.2.1 Condiciones de expendio.

Los productos provenientes del Fabricante 2 se obtuvieron directamente en el lugar de expendio. Las siguientes características, corresponden a dichos productos.

- Temperatura ambiente.
- Envase plástico.
- Tapón plástico
- Tapa plástica.
- Etiqueta del producto:
 - Nombre del producto.
 - Propiedades del producto.
 - Sello del fabricante.
 - Sin fecha de elaboración.
 - Sin fecha de caducidad.

En el Anexo 4 se observan las imágenes de cada una de las muestras.

3.1.2.2 Tablas de Resultados

Se procesó cada una de las muestras correspondientes al Fabricante 2, siguiendo las instrucciones del inserto de la casa comercial como se indicó en el Esquema 2. Los resultados obtenidos son detallados en las tablas 10 y 11.

Tabla 10. Resultados de Mesófilos aerobios Mohos y Levaduras de las muestras analizadas del Fabricante 2

	Mohos y Levaduras (Rosa bengala Agar)		Mesofilos aerobios (LPT Agar)	
	3 días	5 días	3 días	5 días
M6	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml
M7	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml
M8	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml	<100 UFC/ml
M9	<100 UFC/g	<100 UFC/g	<100 UFC/g	<100 UFC/g
M10	<100 UFC/g	<100 UFC/g	>100 UFC/g	>100 UFC/g

UFC: unidades formadoras de colonias

Rosa Bengala: ROSA BENGALA CHLORANFENICOL AGAR

LPT: Lethen Neutralizing Broth.

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Al leer los resultados después de los 3 días y 5 días de incubación en oscuridad, no se evidenció crecimiento en el parámetro para mohos y levaduras. En el parámetro para mesófilos aerobios para las muestras 6, 7, 8 y 9 no se obtuvo crecimiento ver Anexo 9, sin embargo en la muestra 10 se evidenció un crecimiento mayor a 100 UFC/g a los 3 y 5 días de incubación lo cual nos indica un crecimiento elevado ver Figura 18.

Figura 18. Muestra 10, LPT (Lethen Neutralizing Broth) Agar para Mesófilos aerobios.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Tabla 11. Resultados de patógenos de las muestras analizadas del Fabricante 2

	<i>Staphylococcus aureus</i> (Mannitol Agar)		<i>Candida albicans</i> (Biggy Agar)		coliformes/ <i>Escherichia coli</i> (Mugplus Agar)		<i>Burkholderia cepacia</i> (BCPT Agar)		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Cetrimide Agar)	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
M6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- Ausencia de Crecimiento

Manitol: MANNITOL SALT AGAR

Biggy: BIGGY NICKERSON CANDIDA AGAR

Mugplus: MUG PLÚS MICROKIT CROMOGENIC AGAR

BCPT: *Burkholderia cepacia* BCPT AGAR BASE

Cetrimide: CETRIMIDE AGAR

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Después de las 24h y 48h de incubación no se evidenció crecimiento en ninguno de los medios específicos para la identificación de patógenos en ninguna de las muestras del Fabricante 2 ver Anexo 9.

Con el fin de aumentar la sensibilidad para cepas estresadas, que podrían no crecer en los medios selectivos se sembró en superficie placas de LPT (Letheen Neutralizing Broth) Agar con las muestras enriquecidas (48h de incubación) y se las incubó por 48 horas a 35°C. En la tabla 12 se describen los resultados obtenidos

Tabla 12. Resultados LPT (Letheen Neutralizing Broth) Agar con muestras enriquecidas del Fabricante 2 después de 48h de incubación.

Tipos de Colonias (LPT Agar)	
48h	
M6	No Crecimiento
M7	1 tipo de colonia
M8	No Crecimiento
M9	1 tipo de colonia
M10	No Crecimiento

LPT: Letheen Neutralizing Broth.

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

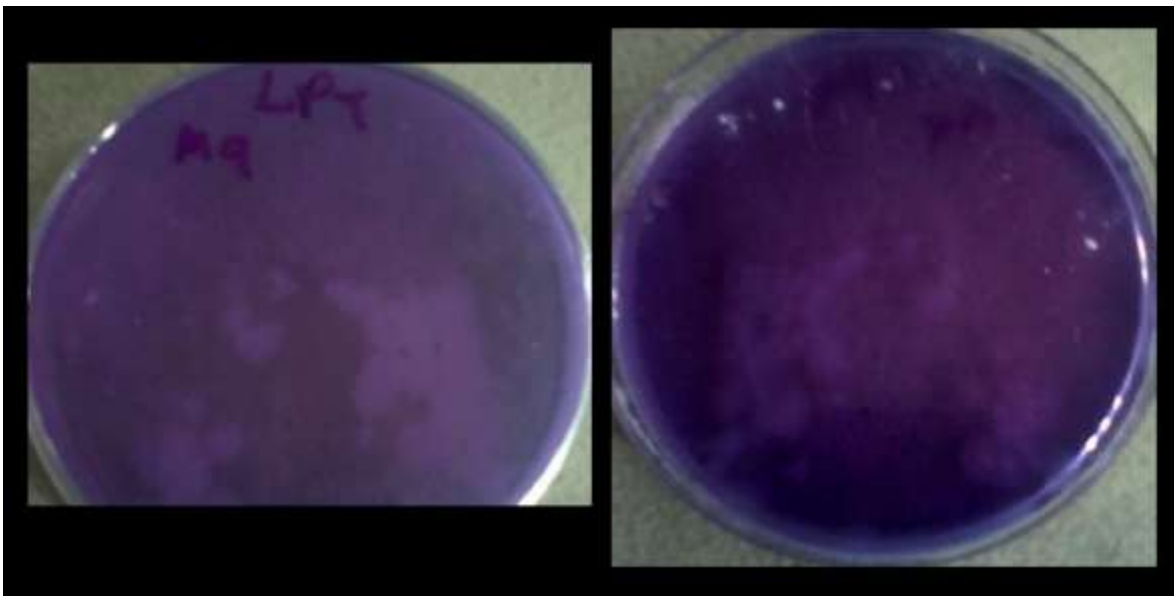
Al obtener los resultados después de las 48h de incubación, se evidenció crecimiento de un tipo de colonia en las muestras 7 y 9 respectivamente (Figuras 19 y 20). Sin embargo, no se evidenció crecimiento en las muestras 6, 8 y 10 ver Anexo 9.

Figura 19. Muestra 7 preenriquecida en LPT (Letheen Neutralizing Broth) Caldo



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Figura 20. Muestra 9 preenriquecida en LPT (Letheen Neutralizing Broth) Caldo



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Al no existir concordancia entre estos resultados y los obtenidos en las pruebas específicas para la identificación de patógenos, se realizó pruebas confirmatorias de

las muestras 7 y 9 , los resultados se describen en la tabla 13, Confirmación de resultados muestras 7 y 9.

Tabla 13. Confirmación de resultados muestras 7 y 9.

	<i>Staphylococcus aureus</i> (Mannitol Agar)		<i>Candida albicans</i> (Biggy Agar)		coliformes/ <i>Escherichia coli</i> (Mugplus Agar)		<i>Burkholderia cepacia</i> (BCPT Agar)		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Cetrimide Agar)	
	48h	72h	48h	72h	48h	72h	48h	72h	48h	72h
M7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- Ausencia de Crecimiento

Manitol: MANNITOL SALT AGAR

Biggy: BIGGY NICKERSON CANDIDA AGAR

Mugplus: MUG PLÚS MICROKIT CROMOGENIC AGAR

BCPT: *Burkholderia cepacia* BCPT AGAR BASE

Cetrimide: CETRIMIDE AGAR

Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Al obtener los resultados después de las 48h y 72h de incubación no se evidenció crecimiento en las pruebas confirmatorias en ninguno de los medios específicos para la identificación de patógenos realizadas a las muestras 7 y 9 del Fabricante 2 ver Anexo 9.

3.1.3 Análisis estadísticos. Frecuencia relativa porcentual.

Se utilizó un análisis estadístico usando la fórmula de frecuencia relativa porcentual la cual se muestra a continuación

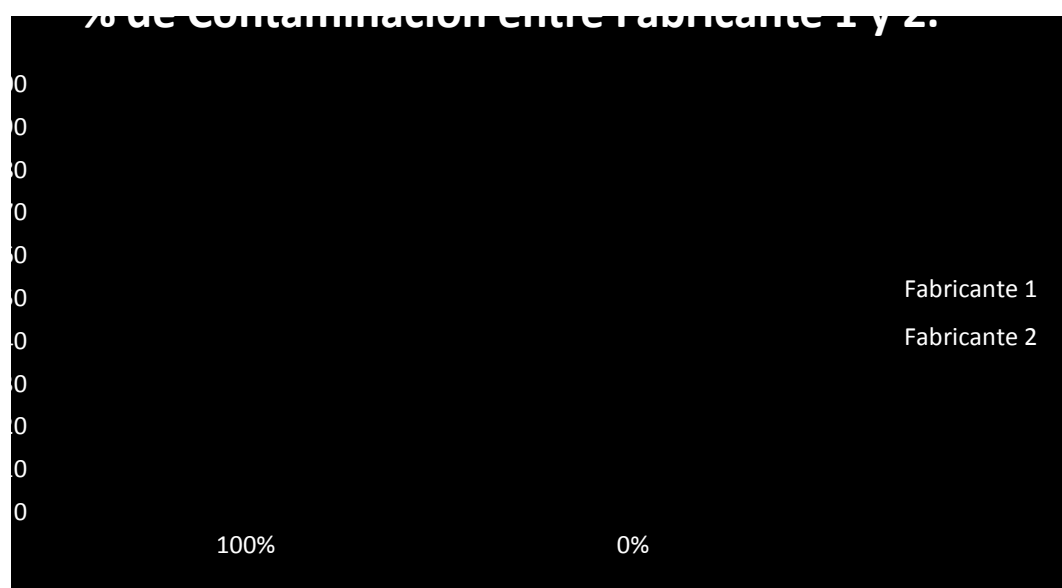
$$Fr\% = \frac{\text{Total de Muestras Contaminadas}}{\text{Total de Muestras Analizadas}} \times 100$$

3.1.3.1 Porcentaje de contaminación Fabricante 1 y Fabricante 2.

Mediante resultados obtenidos en los procedimientos realizados a las muestras de los Fabricantes 1 y 2, cuyos valores se encuentran descritos en las tablas antes

mencionadas, se los compara a continuación en el gráfico 1, Comparación del porcentaje de contaminación entre el Fabricante 1 y Fabricante 2.

Gráfico 1. Comparación del porcentaje de contaminación entre productos del Fabricante 1 y Fabricante 2.



Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Los productos provenientes del lugar de expendio denominado como Fabricante 1 tienen un 100% de contaminación, mientras que los productos provenientes del lugar de expendio denominado como Fabricante 2 tienen un 0% de contaminación.

3.1.3.2 Porcentaje de contaminación de los diferentes grupos de productos de los Fabricantes 1 y 2.

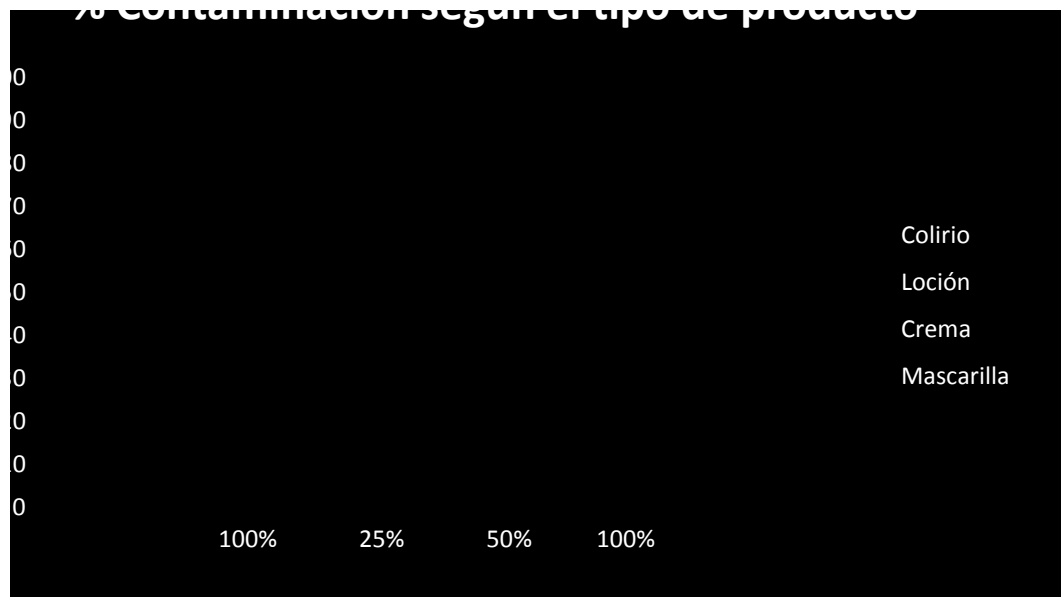
A los productos analizados de los Fabricantes 1 y 2 se los clasificó de acuerdo a los siguientes tipos:

- Colirio
- Loción

- Crema
- Mascarilla

Mediante resultados obtenidos en los procedimientos realizados a las muestras de los Fabricantes 1 y 2, cuyos valores se encuentran descritos en las tablas antes mencionadas, a continuación se detalla los diferentes porcentajes de contaminación según el tipo de producto en el gráfico 2, Porcentajes de contaminación según el tipo de producto.

Gráfico 2. Porcentajes de contaminación según el tipo de producto.



Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Según la clasificación, los productos de mayor porcentaje de contaminación son del grupo de Colirio y Mascarilla con un 100%. Le sigue el grupo de Crema con un 50% y por último el grupo de Loción con un 25%.

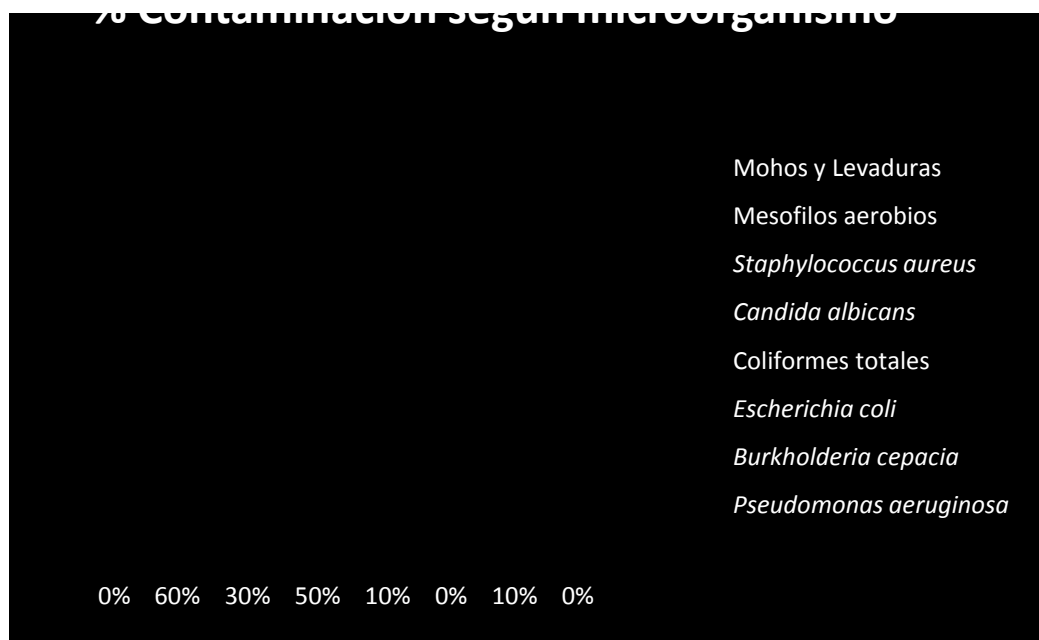
3.1.3.3 Porcentaje de contaminación según el tipo de microorganismo.

A los productos analizados de los Fabricantes 1 y 2 se realizó pruebas de identificación de los siguientes microorganismos:

- Mohos y Levaduras
- Mesófilos aerobios
- *Staphylococcus aureus*
- *Candida albicans*
- Coliformes totales
- *Escherichia coli*
- *Burkholderia cepacia*
- *Pseudomonas aeruginosa*

Mediante resultados obtenidos en los procedimientos realizados a las muestras de los Fabricantes 1 y 2, cuyos valores se encuentran descritos en las tablas antes mencionadas, a continuación se detalla los diferentes porcentajes de contaminación según el tipo de microorganismo analizado en el gráfico 3, Porcentajes de contaminación según el tipo de microorganismo analizado.

Gráfico 3. Porcentajes de contaminación según el tipo de microorganismo analizado.



Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Según los análisis realizados a los productos los microorganismos mayormente encontrados son Mesófilos aerobios con un 60%, seguido de *Candida albicans* con un 50% y *Staphylococcus aureus* con 30%. Los microorganismos encontrados con un menor porcentaje son *Burkholderia cepacia* y coliformes totales con un 10% respectivamente. Mohos, Levaduras, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* se encontraron en un 0% del total de las muestras analizadas.

CONCLUSIONES

Al realizar el presente trabajo investigativo de análisis microbiológico de cosméticos de producción artesanal se concluye que:

- Las muestras del Fabricante 1 no cumplen con los parámetros de calidad microbiológica basados en la Norma UNE-EN-ISO 16140:2003; por lo tanto no son aptas para el consumo ya que causarían daño en la salud de los consumidores.
- Las muestras del Fabricante 2 revelan un manejo adecuado en su elaboración además de la posibilidad de contener preservantes para su conservación y cumplen con los parámetros de la Norma de calidad UNE-EN-ISO 16140:2003
- Los patógenos encontrados con más frecuencia en las muestras analizadas procedentes del Fabricante 1 fueron *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*, lo que demuestra contaminación proveniente de operarios portadores.
- La muestra analizada más contaminada fue la Muestra 2, “Loción Facial Agua de Rosas” procedente del Fabricante 1, la cual presentó *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Burkholderia cepacia*.
- El kit COSMETIKIT de la casa comercial MICROKIT cumplió con excelencia los requerimientos necesarios para el análisis microbiológico de cosméticos.

RECOMENDACIONES

- La experiencia adquirida en este estudio pionero en el control microbiológico de cosméticos alienta la realización de más estudios de este tipo en el Ecuador. Por lo tanto, se recomienda realizar nuevos estudios que abarquen un mayor número de fabricantes y de muestras.
- Los altos costos del kit comercial específico para cosméticos impidieron el empleo de un número mayor de muestras, lo cual, no debería constituirse en un inconveniente para realizar estos estudios microbiológicos en bien de la salud pública.
- Se recomienda realizar un nuevo trabajo que tenga como objetivo la optimización en el proceso de elaboración de los cosméticos artesanales en la ciudad de Quito, incluyendo proyectos de capacitación.
- Realizar un informe puntual con los resultados obtenidos en este estudio preliminar, para comentarlo con los organismos competentes y sugerir la realización un estudio más amplio y específico, para que dichas instituciones tomen las medidas pertinentes.

GLOSARIO DE TÉRMINOS Y SIGLAS

BCPT: *Burkholderia cepacia* AGAR BASE

BHI: Caldo Cerebro Corazón

CAF: Chloranfenicol.

CA-MRSA: Comunity acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

CBc: Complejo *Burkholderia cepacia*k.

CFTA: the Cosmethics, Toiletry and Fragance Association.

Conservantes: son sustancias químicas con actividad antimicrobiana que se incorporan el los cosméticos en pequeñas concentraciones.

HA-MRSA: Hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

INEN: Instituto Ecuatoriano de Normalización.

Insumos naturales: son productos obtenidos de la naturaleza, ejemplo: flores, frutas, hierbas. Estos insumos van a aportar el material necesario para la elaboración de un producto.

LPT: Lethen Neutralizing Broth.

N.M.P: número más probable, es una estrategia eficiente de estimación de densidades poblacionales, se basa en la determinación presencia o ausencia en replicas de diluciones consecutivas de atributos particulares de microorganismos presentes en las muestras.

Microbiología cosmética: la microbiología cosmética es una parte de la microbiología especializada en evaluar la calidad microbiológica de los cosméticos estudiar los factores que pueden afectar el deterioro de las formulaciones, los métodos de control microbiológico y principios de preservación y conservación.

MIPRO: Ministerio de Producción.

MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

MUG: 4-metilumbeliferil- β -glucorónico.

SSS: Síndrome de Piel Escaldada.

TSA: Trypticase Soja Agar

UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

BIBLIOGRAFIA

Manuales:

1. EGAS, Josefina. *“Manual de Microbiología Clínica”*
2. GRANDA, Elena. *“Manual de Prácticas para Control Microbiológico”*
3. ICONTEC, *“Industrias de Cosméticos y de Tocador. Métodos de ensayo microbiológicos para productos cosméticos”*. Segunda actualización. Editada 2006-12-22.

Textos:

4. JAWETZ, MELNICK y ADELBERG, *“Microbiología Médica”*, Editorial El Manual Moderno. México D.F. 17ª Edición. 2002.
5. PHILIP A. Gries, *“Cosmetic Microbiology A Practical Approach”*, Segunda Edición.
6. POSSO, Miguel. *“Metodología para el trabajo de grado Tesis y Proyectos”*. Ibarra – Ecuador. Cuarta Edición. 2009.

Registros

7. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN). Acceso: Octubre-2010.
8. INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE Y MEDICINA TROPICAL “LEOPOLDO “IZQUIETA PÉREZ (INHMT). Acceso: Octubre-2010.
9. JUNTA DE ARTESANOS. Acceso: Octubre-2010.
10. MINISTERIO DE INDUSTRIAS Y PRODUCTIVIDAD (MIPRO). Acceso: Octubre-2010.

Web

11. ALIAGA PÉREZ, Ana. *“MITOS Y REALIDADES EN LA COSMETICA”*. Internet:
<http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000029.nsf/voDocum>

entos/AB1B577A387665FDC1256CFC00362759/\$File/mitos_cosmetica.htm.

Acceso: 16-Feb-2011.

12. ALTUNAGA CANTERO, Lidia. “*Calidad Sanitaria de Cosméticos de producción nacional y de importación durante 1999*”. Internet: http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol15_1_01/ali11101.htm. Acceso: 16-Feb-2011.
13. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. “*Cosméticos*”. Internet: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/cosmeticos>. Acceso: 22-Sep-2010.
14. ARAQUE, Yasmina. “*Identificación bioquímica y PCR especie-específica de cepas de Burkholderia cepacia de origen hospitalario y ambiental en Venezuela*”. Internet: <http://www.scielo.org.ve/pdf/rsvm/v28n2/art03.pdf>. Acceso: 22-Jul-2011.
15. ASINFARMA, “*Normas GMP para la Industria Cosmetica*”. Internet: <http://www.fernandotazon.com.es/wp-content/uploads/2009/10/programa-seminario-iso-22716.pdf>. Acceso: 29-Mar-2011.
16. BERKHOUT, Robin. “*Candida albicans*”. Internet: <http://hongos-alergenicos.reviberoammicol.com/files/025.PDF>. Acceso: 22-Jul-2011.
17. “*Burkholderia, infecciones*”. Internet: http://rie.cl/enfermedades_infecciosas/?e=burkholderia_infecciones. Acceso: 22-Jul-2011.
18. BVS Biblioteca Virtual en Salud - OPS/OMS Uruguay “*Escherichia coli*”. Internet: <http://www.bvsops.org.uy/pdf/coli.pdf>. Acceso: 11-Ago-2011.
19. CALIDAD MICROBIOLÓGICA LTDA. “*Coliformes Totales*”. Internet: http://www.calidadmicrobiologica.com/index.php?option=com_content&task=view&id=6&Itemid=19. Acceso: 22-Jul-2011.
20. CARBAJAL, Ma. Tereza. “*Burkholderia cepacia en la industria cosmética*”. Internet: <http://www.apqc.org.pe/BurkholderiaCepacia.pdf>. Acceso: 22-Jul-2011.
21. CDC. “*SIGNOS Y SÍNTOMAS DE INFECCIÓN DE LA PIEL POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A LA METICILINA (SARM)*”. Internet:

http://www.cdc.gov/mrsa/mrsa_initiative/skin_infection/PDF/GP/MRSA_Broch_SPAN.pdf. Acceso: 5-Jul-2011

22. CLINICA DAM. "INFECCIÓN POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA (MRSA)". Internet: <http://www.clinicadam.com/salud/5/007261.html>. Acceso: 4-Jul-2011.
23. COBIELLA, Nidia. "*Cosmética y Perfumería. Antecedentes y algo de historia*". Internet: <http://www.autosuficiencia.com.ar/shop/detallenot.asp?notid=721>. Acceso: 16-Feb-2011.
24. COLEGIO NACIONAL DE QUÍMICOS FARMACEUTICOS, UNIDAD REGIONAL VALLE. "*PANEL GESTIÓN DEL CUMPLIMIENTO REGULATORIO. Productos Cosméticos y de Aseo*". Internet: <http://cnqfcolombia.org/cms/images/users/14/PRESENTACI%C3%93N%20PA NEL%20GESTI%C3%93N%20DE%20CUMPLIMIENTO%20REGULATORIO.1.pdf>. Acceso: 29-Mar-2011.
25. COSMETICOS.US. "*La Historia de los Cosméticos Bronx*". Internet: <http://www.cosmeticos.us/perfumeria/industria/la-historia-de-los-cosmeticos-bronx/>. Acceso: 16-Feb-2011.
26. DE LA PEÑA, Adolfo. "*Infecciones oculares*". Internet: <http://infeccionesoculares.blogspot.com/>. Acceso: 5-Jul-2011.
27. DI MAIO, Enzo. "*Candida Albicans*". Internet: <http://www.psoriasi.org/psoriasis.sp/candida.htm>. Acceso: 22-Jul-2011.
28. DUNCAN, Lyndsay. "*CANDIDA ALBICANS*". Internet: <http://www.candidiasiscronica.org/Candida%20Albicans%20por%20Lindsay%20Duncan.htm>. Acceso: 22-Jul-2011.
29. ECOCERT GREENLIFE SAS. "*COSMETICOS NATURALES Y ECOLOGICOS*". Internet, <http://www.ecocert.com/es/cosmeticos-naturales-y-ecologicos>. Acceso: 02-Feb-2011.
30. EIA (ESCUELA INTERNACIONAL DE INGENIERÍA DEL AGUA DE ANDALUCIA). "*ANÁLISIS DE AGUAS. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO II. COLIFORMES TOTALES*". Internet:

<http://prueba2.aguapedia.org/master/analisis/protopdf/COLIFTOT.pdf>. Acceso: 22-Jul-2011.

31. EL INFORMADOR COSMETICO. “*ISO 29621. Para identificar cosméticos con bajo riesgo microbiológicos*”. Internet: <http://elinformadorcosmetico.blogspot.com/2010/12/iso-29621-para-identificar-cosmeticos.html>. Acceso: 29-Mar-2011.
32. FDA. *Key Legal Concepts: “Interstate Commerce’, ‘Adulterated’, and ‘Misbranded’*”. Internet, www.fda.gov/Cosmetics/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/ucm074248.htm. Acceso: 02-Feb-2011.
33. FOOD-INFO.NET. “*Staphylococcus aureus*”. Internet: <http://www.food-info.net/es/bact/staur.htm>. Acceso: 4-Jul-2011.
34. GENERALITAT DE CATALUNYA. DEPARTAMENTO DE SALUD. “*Líneas directrices de buenas prácticas de producción de productos cosméticos*”. Internet: <http://www.gencat.cat/salut/depsalut/html/ca/dir1985/bppc08cast.pdf>. Acceso: 16-Feb-2011.
35. INSTITUTO VALENCIANO DE MICROBIOLOGÍA. “*Microbiología de cosméticos. (30/10/05)*”. Internet: http://www.ivami.com/novedad_indiv.php?vol=18&id=1422&id_noticia=1522&lang=es. Acceso: 11-Ago-2011.
36. LABORATORIO LINSAN S.A. “*Cultivo OCULAR-OTICO*”. Internet: http://lablinsan.cl/index_files/Page2795.htm. Acceso: 5-Jul-2011.
37. LABORATORIOS MICROKIT. Internet: <http://www.microkit.es/> Acceso: 15-Mar-2011.
38. MACRO ESTETICA, Química Cosmética. “*Conservantes empleados en formulaciones cosméticas*”. Internet: <http://cosmetologia.macroestetica.com/?p=285>. Acceso: 18-Mar-2011.
39. MEDLINE PLUS. “*Infecciones por Escherichia coli*”. Internet: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ecoliinfections.html>. Acceso: 01-Sep-2011.

40. MIMI.HU. “*Candidiasis*”. Internet: <http://es.mimi.hu/medicina/candidiasis.html>. Acceso: 01-Sep-2011.
41. ROJAS, Norman. “*BACTERIOLOGÍA DIAGNOSTICA*”. 2006. Internet: <http://www.scribd.com/doc/50046366/9/PSEUDOMONAS-Y-BURKHOLDERIA>. Acceso: 22-Jul-2011.
42. RUIZ QUIROZ, Julio Reynaldo. “*CONTROL DE CALIDAD MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS COSMÉTICOS*”. Internet: <http://julioreynaldoruizquiroz.blogspot.com/2008/03/control-de-calidad-microbiologico-de.html>. Acceso: 16-Feb-2011.
43. SILVA, Marco. “*Candida Albicans*”. Internet: <http://candidalbicans.blogspot.com/> Acceso: 14-Jul-2011.
44. SUAREZ, Alejandro. “*¿Desde cuándo existen las cremas de belleza?*”. Internet: <http://www.femenino.info/tag/historia-de-las-cremas-de-belleza>. Acceso: 02-Feb-2011.
45. TEENSHEALTH. “*Infecciones por estafilococos*”. Internet: http://kidshealth.org/teen/en_espanol/infecciones/staph_esp.html#. Acceso: 01-Sep-2011.
46. TODAR’S Online Textbook of Bacteriology. “*Staphylococcus aureus and Staphylococcal Disease*”. Internet: <http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html> Acceso: 4-Jul-2011.
47. PARLAMENTO EUROPEO. “*El PE aprueba nuevas normas que reforzarán la protección de los consumidores en el uso de cosméticos*”. Internet: <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?pubRef=-//EP//TEXT+IMPRESS+20090323IPR52331+0+DOC+XML+V0//ES>. Acceso: 16-Feb-2011.
48. URBANEJA, Sixto. “*Bacterias*”. Internet: <http://www.monografias.com/trabajos11/bacte/bacte.shtml>. Acceso: 22-Jul-2011.
49. WIKIPEDIA. “*Cosmético*”. Internet: <http://es.wikipedia.org/wiki/Cosm%C3%A9tico>. Acceso: 02-Feb-2011.

ANEXOS

ANEXO 1. Norma UNE-EN-ISO 16140:2003

Norma	UNE-EN ISO 16140:2003
Título español	Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Protocolo de validación de métodos alternativos (ISO 16140:2003).
Título inglés	Microbiology of food and animal feeding stuffs - Protocol for the validation of alternative methods (ISO 16140:2003)
Título francés	Microbiologie des aliments - Protocole pour la validation des méthodes alternatives (ISO 16140:2003)
Fecha Edición	2003-12-12
Versión confirmada en fecha	2009-11-01
ICS	07.100.30 / Microbiología de los alimentos
Comité	AEN/CTN 34 - PRODUCTOS ALIMENTARIOS

Abstract

ISO 16140:2003 defines the general principle and the technical protocol for the validation of alternative methods in the field of microbiological analysis of food, animal feeding stuffs and environmental and veterinary samples for the validation of alternative methods which can be used in particular in the framework of the official control, and the international acceptance of the results obtained by the alternative method.

It also establishes the general principles of certification of these alternative methods, based on the validation protocol defined in ISO 16140:2003.

Where an alternative method is used on a routine basis for internal laboratory use without the requirement to meet (higher) external criteria of quality assurance, a less stringent comparative validation of the alternative method than that set in ISO 16140:2003 may be appropriate.

ANEXO 2. Certificado de validación del kit COSMETIKIT



CERTIFICADO DE VALIDACIÓN DE COSMÉTICOS



Certificamos que el método y/o productos:

Protocolo SEILAPARFUM para análisis microbiológicos de cosméticos (ref. MICROKIT PRT-SEILA-003, de 31 páginas) y los específicos para cada parámetro derivados de aquél (PRT-COSM-001 a PRT-COSM-009, de 30-38 páginas cada uno), cuyo esquema de trabajo se anexa a título informativo (sin que sustituya dichos protocolos completos), llevado a cabo mediante las últimas versiones disponibles (entre paréntesis referencias MICROKIT) de:

- ✓ COSMETIKIT® (KMT444), COSMETIKIT®-EASY (KMT448) y los medios de cultivo en ellos indicados:
- ✓ LPT Neutralizing Broth (DMT217, RPL054, TPL053S),
- ✓ LPT Neutralizing Agar (DMT066, RPL074, TPL200),
- ✓ Rosa Bengala Caf. Agar (DMT101, RPL034, TPL072),
- ✓ Cetrimide Agar (DMT034, RPL010, TPL100, KMT476),
- ✓ BCPT Agar (DMT004, RPL024, TPL005, KMT477),
- ✓ Mannitol Salt Agar (DMT078, RPL023, TPL066, KMT480),
- ✓ MugPlus Cfs. Agar (DMT400, RPL444, TPL400, KMT479),
- ✓ Biggy Nickerson Agar (DMT017, RPL009, TPL062, KMT478) y
- ✓ SPS Agar (DMT116, BCD901, RPL039, RPL062, TPL089, TPL049),
- ✓ CompactDryPlates® y Pathokit (TC, YM, EC, XSA, KMT475),

Cumplen con los estándares de VALIDACIÓN de la Norma UNE-EN-ISO 16140:2003, cuyos resultados se anexan. La validación está realizada mediante comparación, utilizando cepas cuantitativas certificadas y trazables, frente a los métodos oficiales de referencia (Manual Microbiología Cosmética Comité Asesor de Cosmetología, Ministerio de Sanidad y Consumo. Real Farmacopea Española. Diversas Normas Técnicas vigentes o en fase final de aprobación ISO/UNE para microbiología cosmética).

El presente certificado sólo es válido durante el periodo de vigencia de los métodos citados y aunque se garantiza cuatrimestralmente, mediante revalidación intercomparativa SEILA, habrá de ser renovado antes de cinco años desde su fecha de emisión, indicada al pie. Este certificado autoriza al usuario del método y de los medios validados, a respaldarse en los estudios de validación de MICROKIT para la validación interna o para la verificación interna de su método, medios y kits con sus propias matrices, equipos, analistas y en sus instalaciones, siempre que se empleen correctamente los métodos y productos referenciados y amparados en este certificado, que no pueden extrapolarse a otras marcas comerciales

Garantizado por: 
Jorge Sanchis Solera

A fecha: 31-Marzo-2009
Última revisión 27-01-2010

Coordinador SEILA y Director de Calidad MICROKIT®

1

ANEXO 3. Certificado del Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical Leopoldo Izquieta.

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA		
SISTEMA NACIONAL DE VIGILANCIA Y CONTROL INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE "LEOPOLDO IZQUIETA PEREZ"		
DECISION ANDINA 516		
PRODUCTOS COSMETICOS		
NOTIFICACION SANITARIA OBLIGATORIA		
DECLARACIÓN JURADA		
CÓDIGO:	Ciudad y Fecha:	
VIGENCIA HASTA:		
Número de Tramite:	Ciudad y Fecha:	
TITULAR DE LA NOTIFICACIÓN:		
Nombre	País:	
Ciudad;	Dirección:	
Teléfono:	Fax:	e-mail:
FABRICANTE		
Nombre:		
País:	Ciudad:	
Dirección:		
Teléfono:	Fax:	e-mail:

IMPORTADO DESDE:

País:

Ciudad:

RESPONSABLE DE LA COMERCIALIZACION

Nombre:

País:

Ciudad:

Dirección:

NOMBRE DEL REPRESENTANTE LEGAL:

Ciudad:

Dirección:

Teléfono:

Fax:

e-mail:

NOMBRE DEL PRODUCTO:

Forma Cosmética:

Presentación y contenido:

ANEXO 4. Fotografías de las Muestras.

- **M1** Colirio.- Compuesto en forma de gotas, de uso externo para aliviar problemas oculares.

Muestra 1, Colirio.



Tomada por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **M2** Loción Facial Agua de Rosas.- Uso externo para limpieza facial.

Muestra 2. Loción Facial Agua de Rosas.



Tomada por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **M3** (Muestra 3): Crema Baba de Caracol.- Uso externo para tratamiento de arrugas y manchas.

Muestra 3, Crema Baba de caracol.



Tomada por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **M4** (Muestra 4): Crema Nutritiva.- Uso externo para nutrir cutis.

Muestra 4. Crema Nutritiva.



Tomada por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **M5** (Muestra 5): Mascarilla.- Uso externo para tratamiento facial.

Muestra 5. Mascarilla.



Tomada por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **M6** (Muestra 6): Loción para hongos.- Uso externo para problemas nicóticos en piel.

Muestra 6. Loción para hongos.



Tomada por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **M7** (Muestra 7): Agua de Rosas.- Uso externo para limpieza facial.

Muestra 7. Agua de Rosas.



. Tomada por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **M8** (Muestra 8): Loción para acné. – Uso externo para problemas de cutis.

Muestra 8. Loción para acné.



. Tomada por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **M9** (Muestra 9): Crema de miel de abejas.– Uso externo para limpiar y nutrir la piel.

Muestra 9. Crema de miel de abejas. Tomada ABAC.



Tomada por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **M10** (Muestra 10): Crema nutritiva. – Uso externo para nutrir y suavizar la piel.

Muestra 10. Crema nutritiva.



Tomada por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

ANEXO 5. Registro de cepas preservadas.

- Especie: *Staphylococcus aureus*.

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
COLECCIÓN DE CULTIVOS MICROBIANOS**

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca. Laboratorio de Microbiología DiSerlab - PUCE. Telf: (593)22991677.
E-mail:

Registro de cepas preservadas.

Tipo de microorganismo				Uso exclusivo de CCEB	
Bacteria	<input checked="" type="checkbox"/>	Arquea		CCEB # de acceso:	1
Hongo		Levadura		Fecha de recepción:	4/V/2009
				Fecha de acceso:	6/V/2009

Código: EB-I-1	Especie: <i>Staphylococcus aureus</i> .
----------------	---

Depósito interno: Depósito externo:
 Depósito para acceso público: Depósito con acceso restringido:

Designación de la cepa utilizada por el depositante: Cepa 6	
¿Es cepa tipo?	No
# de Acceso en otras colecciones:	Cepa 6

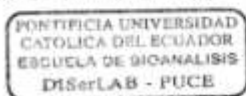
Estado en que se recibe la cepa			
Metabólicamente activa		Preservada	<input checked="" type="checkbox"/>
Medio y condiciones para recuperar la cepa: Se recibe liofilizado al que se añade 2 ml de BHI caldo y se incuba por dos horas a 35°C para inocularse en TSA.			

Origen de la cepa.	
Fuente de aislamiento:	Indefinido
Laboratorio /Institución:	Indefinido
Origen geográfico (Ciudad/Provincia/País):	Indefinido

Identificación	
Medios de cultivo en que se aísla a partir de la muestra.	Aislado por: Indefinido
	Fecha aislamiento: Indefinido
	Identificado por: Personal DiSerlab - PUCE
	Método identificación: Pruebas bioquímicas convencionales.
	Fecha identificación: indefinido
Nivel Bioseguridad: 2	Medios y condiciones adecuadas para cultivo: 35° C, TSA, Agar nutritivo, o medios de cultivo semejantes.

Caracterización:

Preservación (Uso exclusivo CCEB)		
Fecha de preservación: 6/V/2009		
Cepa de reserva	Método: leche descremada 12%, glucosa 2%, -70°C	# viales: 4 viales
		Ubicación: CR1 (naranja) A1- A4
Cepa de distribución	Método: BHI caldo con 20% Glicerol	# viales: 9 viales
		Ubicación: CT1 (amarilla) A1 – A9
Medios de cultivo utilizados antes de preservación: TSA		
Preservado por: Martín Marcial		



- Especie: *Candida albicans*.

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
COLECCIÓN DE CULTIVOS MICROBIANOS**

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca. Laboratorio de Microbiología DiSerLab - PUCE. Telf: (593)22991677.
E-mail:

Registro de cepas preservadas.

Tipo de microorganismo				Uso exclusivo de CCEB	
Bacteria		Arquea		CCEB # de acceso: 94	
Hongo		Levadura	<input checked="" type="checkbox"/>	Fecha de recepción: 12/XII/2011	
				Fecha de acceso: 13/I/2012	

Código: EB-I-94 Especie: *Candida albicans*

Depósito interno: Depósito externo:
 Depósito para acceso público: Depósito con acceso restringido:

Designación de la cepa utilizada por el depositante:
 ¿Es cepa tipo? No # de Acceso en otras colecciones:

Estado en que se recibe la cepa

Metabólicamente activa	<input checked="" type="checkbox"/>	Preservada		Medio y condiciones para recuperar la cepa: CHROMagar
------------------------	-------------------------------------	------------	--	--

Origen de la cepa.

Fuente de aislamiento: Secreción vaginal
 Laboratorio /Institución: DiSerLab - PUCE
 Origen geográfico (Ciudad/Provincia/País): Quito /Pichincha / Ecuador

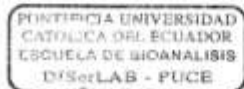
Identificación

Medios de cultivo en que se aisla a partir de la muestra:	Aislado por: María L. Almeida
enriquecimiento selectivo en TSB y Agar Mycosei	Fecha aislamiento: 13/XII/2011
	Identificado por: María L. Almeida
	Método identificación: Siembra en medio diferencial CHROMagar
	Fecha identificación: 13/XII/2011
Nivel Bioseguridad: 1	Medios y condiciones adecuadas para cultivo: 30° C, TSA, agar nutritivo o medios de cultivo semejantes

Caracterización:

Preservación (Uso exclusivo CCEB)

Fecha de preservación: 14/XII/2011		
Cepa de reserva	Método: leche descremada 10%, glucosa 1%, Ext de levadura 0.5%, Glicerol 10% -70°C	# viales: 2 viales Ubicación: NA
Cepa de distribución	Método: BHI caldo con 20% de Glicerol -20°C	# viales: 5 viales Ubicación: No Aplica
Medios de cultivo utilizados antes de preservación: TSA		
Preservado por: María L. Almeida		



- Especie: *Burkholderia cepacia*.

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
COLECCIÓN DE CULTIVOS MICROBIANOS**

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca. Laboratorio de Microbiología DiSerlab – PUCE. Telf: (593)22991677.
E-mail:

Registro de cepas preservadas.

Tipo de microorganismo				Uso exclusivo de CCEB	
Bacteria	<input checked="" type="checkbox"/>	Arquea		CCEB # de acceso: 43	
Hongo		Levadura		Fecha de recepción: 5/X/2009	
				Fecha de acceso: 5/X/2009	

Código: EB-I-43	Especie: <i>Burkholderia cepacia</i> .
------------------------	--

Depósito interno: Depósito externo:

Depósito para acceso público: Depósito con acceso restringido:

Designación de la cepa utilizada por el depositante:

¿Es cepa tipo?	No	# de Acceso en otras colecciones:
----------------	----	-----------------------------------

Estado en que se recibe la cepa			
Metabólicamente activa	<input checked="" type="checkbox"/>	Preservada	
			Medio y condiciones para recuperar la cepa:

Origen de la cepa.	
Fuente de aislamiento: Agua de fuente	
Laboratorio /Institución: DiSerLAB - PUCE	
Origen geográfico (Ciudad/Provincia/País): / /Rusia	

Identificación	
Medios de cultivo en que se aísla a partir de la muestra.	Aislado por: Tlga. Mdca. María de Lourdes Almeida Fecha aislamiento: 21/ VIII/2009
TSA	Identificado por: Tlga. Mdca. María de Lourdes Almeida – Martín Marcial Método identificación: Pruebas bioquímicas convencionales + API 20NE Fecha identificación: 5/X/2009
Nivel Bioseguridad: 2.	Medios y condiciones adecuadas para cultivo: 35° C, TSA, agar nutritivo o medios semejantes

Caracterización:

Preservación (Uso exclusivo CCEB)			
Fecha de preservación: 6/X/2009			
Cepa de reserva	<input checked="" type="checkbox"/>	Método: leche descremada 10%, glucosa 1%, Extracto de levadura 0,5%, Glicerol 10% -70°C	# viales: 4 viales Ubicación: CR3 (celeste) 4 - 7
Cepa de distribución	<input checked="" type="checkbox"/>	Método: BHI caldo con 20% de Glicerol -20°C	# viales: 6 viales Ubicación: CT4 (transparente) G4 – G9
Medios de cultivo utilizados antes de preservación: TSA			
Preservado por: Martín Marcial – Daniela Vásconez			



- Especie: *Escherichia coli*.

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
COLECCIÓN DE CULTIVOS MICROBIANOS**

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca. Laboratorio de Microbiología DiSerlab – PUCE. Telf: (593)22891677.
E-mail:

Registro de cepas preservadas.

Tipo de microorganismo				Uso exclusivo de CCEB	
Bacteria	x	Arquea		CCEB # de acceso: 5	
Hongo		Levadura		Fecha de recepción: 18/V/2008	
				Fecha de acceso: 18/V/2009	

Código: EB-I-5 Especie: *Escherichia coli*.

Depósito interno: Depósito externo:

Depósito para acceso público: Depósito con acceso restringido:

Designación de la cepa utilizada por el depositante:

¿Es cepa tipo? # de Acceso en otras colecciones:

Estado en que se recibe la cepa			Medio y condiciones para recuperar la cepa:
Metabólicamente activa	x	Preservada	

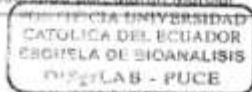
Origen de la cepa.

Fuente de aislamiento: Colección hepática cirugía general HCAM
Laboratorio /Institución: Laboratorio Microbiología HCAM.
Origen geográfico (Ciudad/Provincia/País): Quito/Pichincha/Ecuador

Identificación	
Medios de cultivo en que se aísla a partir de la muestra.	Aislado por: Loda. Isabel Narváez Fecha aislamiento: IV / 2009
Agar Chocolate, sangre de cordero y Mc Conkey	Identificado por: Loda. Isabel Narváez Método identificación: Bioquímica convencional. Fecha identificación: IV / 2009
Nivel Bioseguridad: 2	Medios y condiciones adecuadas para cultivo: 35° C, TSA, Agar nutritivo, o medios de cultivo semejantes + β lactámico a consideración .

Caracterización:
Cepa productora de BLEE.
BLEE: CTC (20), CTX (6), CZC (14), CAZ (10)
Sensibilidad: SXT (25), MEM (25), IPM (24), AK (18)
Resistencia: AMC (6), CIP (6), CRO (6), GN (6), ATM (8), FEP (6), SAM (8), TPZ (16), AMP (6)

Preservación (Uso exclusivo CCEB)			
Fecha de preservación: 19/V/2009			
Cepa de reserva	x	Método: leche descremada 12%, glucosa 2%, -70°C	# viales: 3 viales Ubicación: CR1 (naranja) C2 – C4
Cepa de distribución	x	Método: BHI caldo con 20% Glicerol -20°C	# viales: 5 viales Ubicación: CT1 (amarilla) D9 – E4
Medios de cultivo utilizados antes de preservación: TSA + 0,6g/l de Cefalotina			
Preservado por: Martín Marcial			



- Especie: *Pseudomonas aeruginosa*.

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
COLECCIÓN DE CULTIVOS MICROBIANOS**

Av. 12 de Octubre 1076 y Roca, Laboratorio de Microbiología DiSerlab – PUCE. Telf: (593)22991677.
E-mail:

Registro de cepas preservadas.

Tipo de microorganismo				Uso exclusivo de CCEB	
Bacteria	x	Arquea		CCEB # de acceso:	3
Hongo		Levadura		Fecha de recepción:	12/V/2009
				Fecha de acceso:	13/V/2009

Código: **EB-I-3** Especie: *Pseudomonas aeruginosa*.

Depósito interno: Depósito externo:
 Depósito para acceso público: Depósito con acceso restringido:

Designación de la cepa utilizada por el depositante: Cepa 4
 ¿Es cepa tipo? No # de Acceso en otras colecciones: Cepa 4

Estado en que se recibe la cepa

Metabólicamente activa		Preservada	x	Medio y condiciones para recuperar la cepa: Se recibe fofilizado al que se añade 2 ml de BHI caldo y se incuba por dos horas a 35°C para inocularse en TSA.
------------------------	--	------------	---	--

Origen de la cepa.

Fuente de aislamiento: Indefinido
 Laboratorio /institución: Indefinido
 Origen geográfico (Ciudad/Provincia/País): Indefinido (Cepario piloto)

Identificación

Medios de cultivo en que se aísla a partir de la muestra.	Aislado por: Indefinido
	Fecha aislamiento: Indefinido
	Identificado por: Martín Marcial
	Método identificación: Pruebas bioquímicas convencionales API 20 NE Fecha identificación: 13 / V /2009
Nivel Bioseguridad: 2	Medios y condiciones adecuadas para cultivo: 35° C, TSA, Agar nutritivo, o medios de cultivo semejantes.

Caracterización:

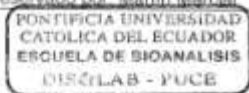
Preservación (Uso exclusivo CCEB)

Fecha de preservación: 14/V/2009

Cepa de reserva	x	Método: leche descremada 12%, glucosa 2%, -70°C	# viales: 5 viales Ubicación: CR1 (naranja) B1- B5
Cepa de distribución	x	Método: BHI caldo con 20% Glicerol	# viales: 9 viales Ubicación: CT1 (amarilla) C1 – C9

Medios de cultivo utilizados antes de preservación: TSA

Preservado por: Martín Marcial



ANEXO 6. Registro de las temperaturas de la incubadora y ambiente.

Registro de Control de temperatura Equipo: Incubadora “marca” Laboratorio: Docencia microbiología #2 Temperatura óptima: 33°C (1°C)			
Fecha	Hora	Temperatura (°C)	Firma Responsables
04/Jul/2011	12h00	34	AC.A/AB.V
04/Jul/2011	14h00	34	AC.A/AB.V
04/Jul/2011	15h00	35	AC.A/AB.V
04/Jul/2011	16h00	35	AC.A/AB.V
05/Jul/2011	12h00	35	AC.A/AB.V
05/Jul/2011	14h00	34	AC.A/AB.V
05/Jul/2011	15h00	34	AC.A/AB.V
05/Jul/2011	16h00	34	AC.A/AB.V
06/Jul/2011	12h00	35	AC.A/AB.V
06/Jul/2011	14h00	34	AC.A/AB.V
06/Jul/2011	15h00	34	AC.A/AB.V
06/Jul/2011	16h00	34	AC.A/AB.V
07/Jul/2011	12h00	33	AC.A/AB.V
07/Jul/2011	14h00	33	AC.A/AB.V
07/Jul/2011	15h00	33	AC.A/AB.V
07/Jul/2011	16h00	34	AC.A/AB.V
08/Jul/2011	12h00	35	AC.A/AB.V
08/Jul/2011	14h00	35	AC.A/AB.V
08/Jul/2011	15h00	34	AC.A/AB.V
08/Jul/2011	16h00	34	AC.A/AB.V
11/Jul/2011	12h00	33	AC.A/AB.V
11/Jul/2011	14h00	33	AC.A/AB.V
11/Jul/2011	15h00	34	AC.A/AB.V
11/Jul/2011	16h00	34	AC.A/AB.V
12/Jul/2011	12h00	33	AC.A/AB.V
12/Jul/2011	14h00	33	AC.A/AB.V
12/Jul/2011	15h00	34	AC.A/AB.V
12/Jul/2011	16h00	34	AC.A/AB.V
13/Jul/2011	12h00	34	AC.A/AB.V

13/Jul/2011	14h00	35	AC.A/AB.V
13/Jul/2011	15h00	35	AC.A/AB.V
13/Jul/2011	16h00	35	AC.A/AB.V
14/Jul/2011	12h00	34	AC.A/AB.V
14/Jul/2011	14h00	33	AC.A/AB.V
14/Jul/2011	15h00	33	AC.A/AB.V
14/Jul/2011	16h00	33	AC.A/AB.V
15/Jul/2011	12h00	34	AC.A/AB.V
15/Jul/2011	14h00	34	AC.A/AB.V
15/Jul/2011	15h00	35	AC.A/AB.V
15/Jul/2011	16h00	35	AC.A/AB.V

* AC.A/AB.V: Ana C. Andrade, Ana B. Valdiviezo
Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Registro de Control de temperatura
Temperatura ambiente
Laboratorio: Docencia microbiología #2
Temperatura óptima: 20°C (1°C)

Fecha	Hora	Temperatura (°C)	Firma Responsables
04/Jul/2011	12h00	20	AC.A/AB.V
04/Jul/2011	14h00	20	AC.A/AB.V
04/Jul/2011	15h00	20	AC.A/AB.V
04/Jul/2011	16h00	20	AC.A/AB.V
05/Jul/2011	12h00	21	AC.A/AB.V
05/Jul/2011	14h00	21	AC.A/AB.V
05/Jul/2011	15h00	22	AC.A/AB.V
05/Jul/2011	16h00	22	AC.A/AB.V
06/Jul/2011	12h00	20	AC.A/AB.V
06/Jul/2011	14h00	19	AC.A/AB.V
06/Jul/2011	15h00	19	AC.A/AB.V
06/Jul/2011	16h00	19	AC.A/AB.V
07/Jul/2011	12h00	20	AC.A/AB.V
07/Jul/2011	14h00	21	AC.A/AB.V
07/Jul/2011	15h00	22	AC.A/AB.V
07/Jul/2011	16h00	21	AC.A/AB.V
08/Jul/2011	12h00	22	AC.A/AB.V
08/Jul/2011	14h00	22	AC.A/AB.V
08/Jul/2011	15h00	22	AC.A/AB.V
08/Jul/2011	16h00	22	AC.A/AB.V
11/Jul/2011	12h00	21	AC.A/AB.V
11/Jul/2011	14h00	21	AC.A/AB.V
11/Jul/2011	15h00	21	AC.A/AB.V
11/Jul/2011	16h00	21	AC.A/AB.V
12/Jul/2011	12h00	20	AC.A/AB.V
12/Jul/2011	14h00	20	AC.A/AB.V
12/Jul/2011	15h00	20	AC.A/AB.V
12/Jul/2011	16h00	20	AC.A/AB.V
13/Jul/2011	12h00	20	AC.A/AB.V
13/Jul/2011	14h00	20	AC.A/AB.V
13/Jul/2011	15h00	21	AC.A/AB.V

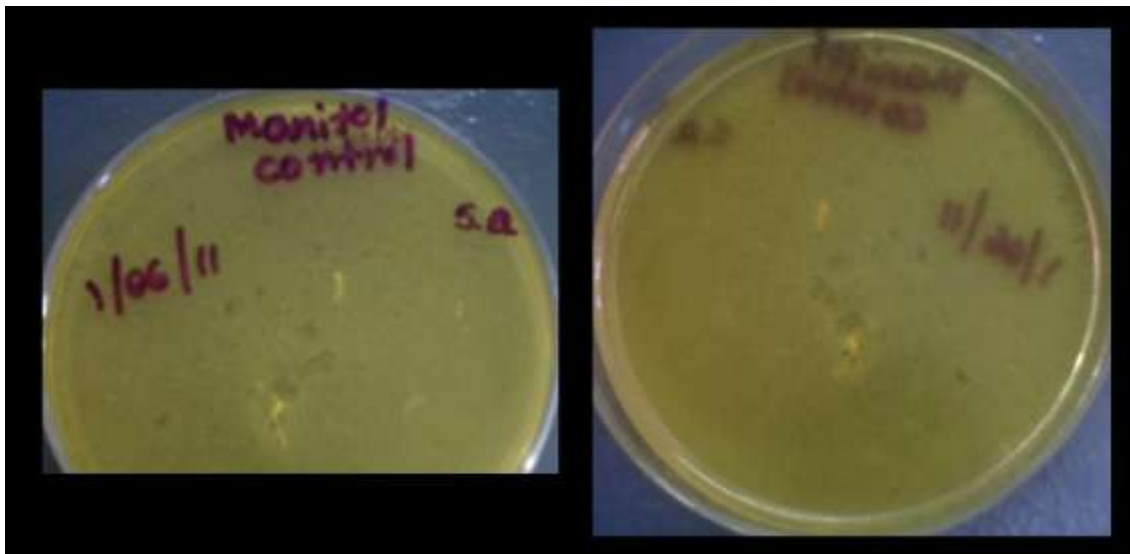
13/Jul/2011	16h00	21	AC.A/AB.V
14/Jul/2011	12h00	21	AC.A/AB.V
14/Jul/2011	14h00	21	AC.A/AB.V
14/Jul/2011	15h00	22	AC.A/AB.V
14/Jul/2011	16h00	22	AC.A/AB.V
15/Jul/2011	12h00	21	AC.A/AB.V
15/Jul/2011	14h00	20	AC.A/AB.V
15/Jul/2011	15h00	20	AC.A/AB.V
15/Jul/2011	16h00	20	AC.A/AB.V

* AC.A/AB.V: Ana C. Andrade, Ana B. Valdiviezo
Elaborado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

ANEXO 7. Fotografías controles

Controles Fabricante 1

Control Mannitol Agar con cepa nativa *Staphylococcus aureus*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Control Biggy Agar con cepa nativa *Candida albicans*



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Control Mugplus Agar con cepa nativa *Escherichia coli*.



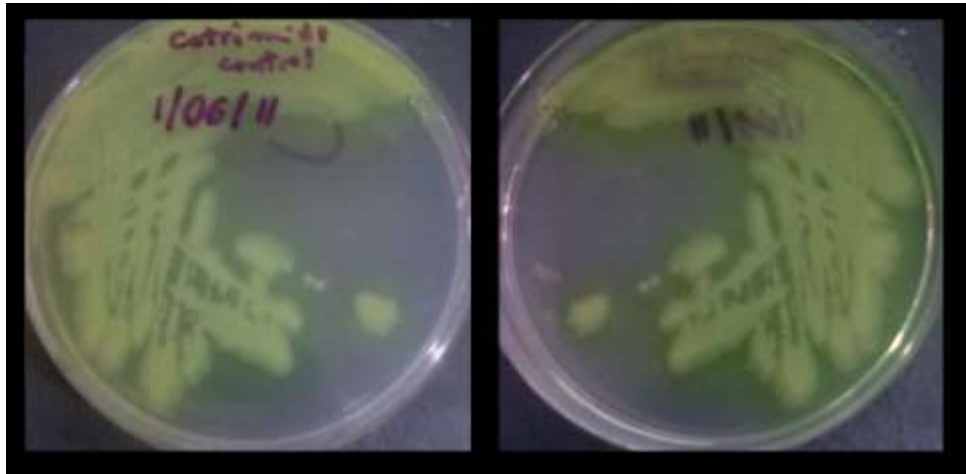
Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Control BCPT Agar con cepa nativa *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

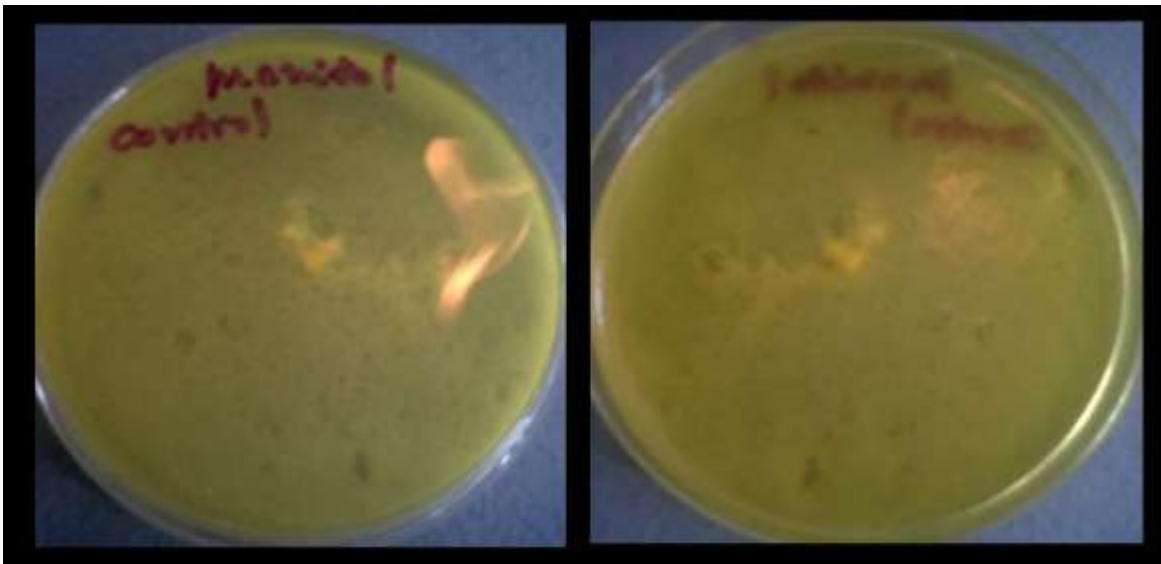
Control Cetrimide Agar con cepa nativa *Pseudomonas aeruginosa*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

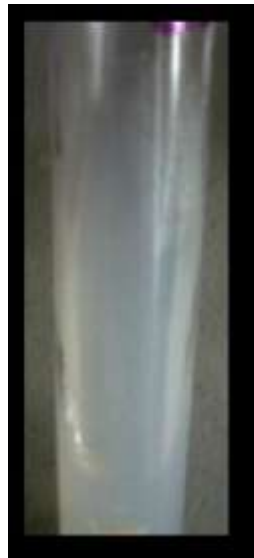
Controles Fabricante 2

Control Mannitol Agar con cepa nativa *Staphylococcus aureus*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Control Biggy Agar con cepa nativa *Candida albicans*.



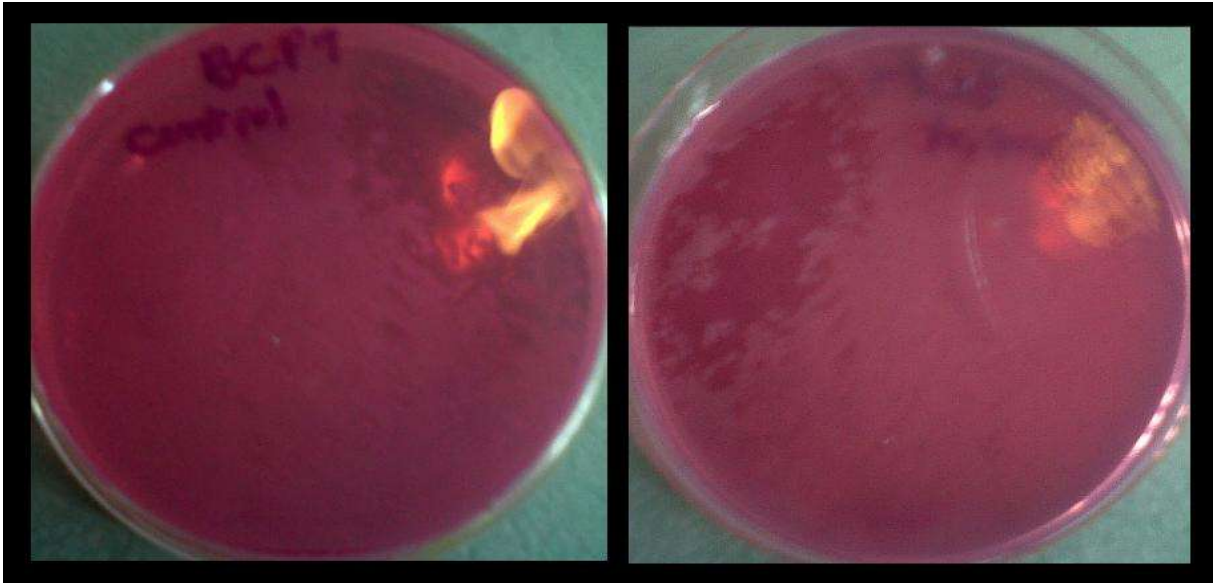
Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Control Mugplus Agar con cepa nativa *Escherichia coli*.



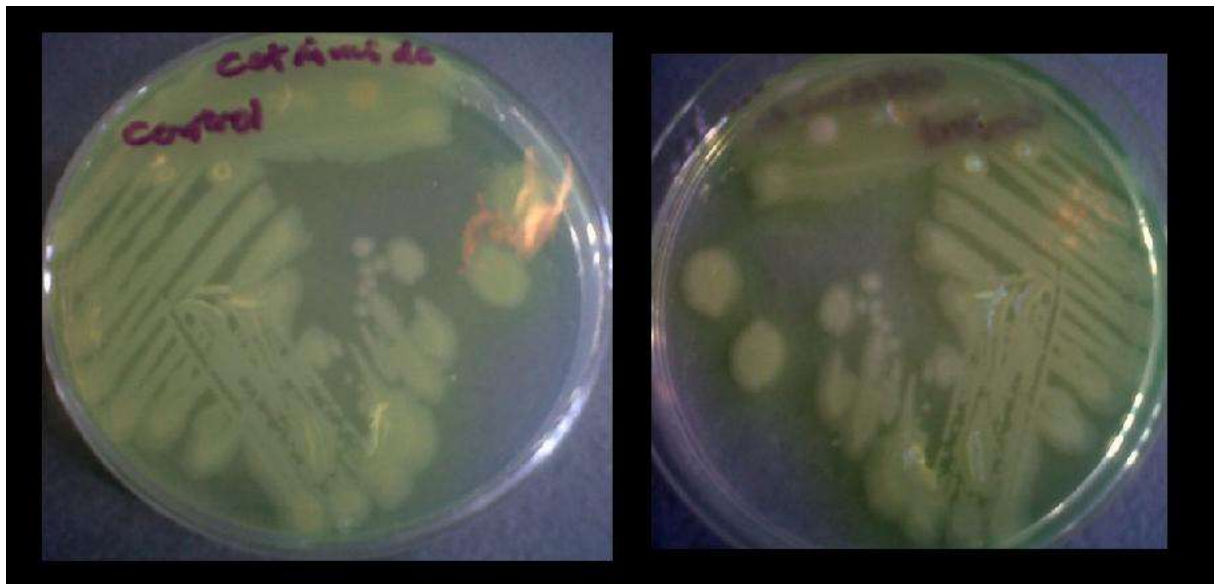
Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Control BCPT Agar con cepa nativa *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

Control Cetrimide Agar con cepa nativa *Pseudomonas aeruginosa*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

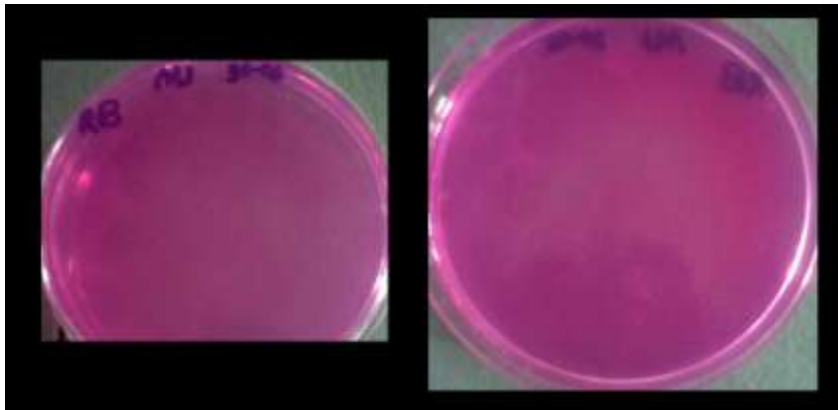
Los controles fueron sembrados de la misma forma que se sembraron las muestras.

ANEXO 8. Fotografías productos del Fabricante 1 resultados negativos.

- **Muestra 1. M1.**

M1 (Muestra 1): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mohos y Levaduras.

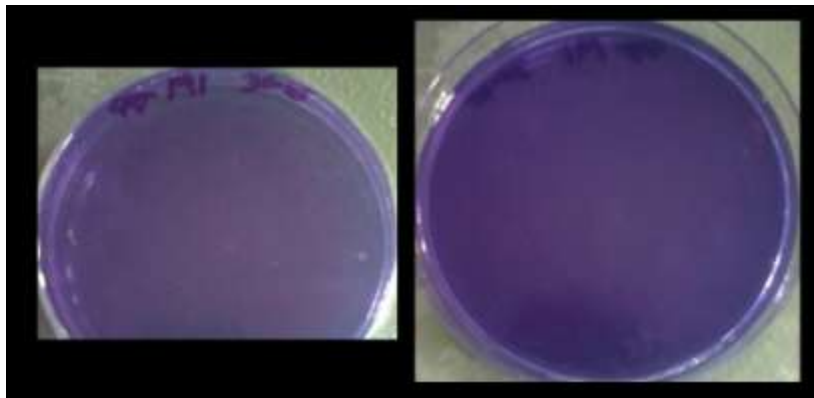
Muestra 1. Rosa bengala Agar para Mohos y Levaduras.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M1 (Muestra 1): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mesófilos aerobios.

Muestra 1. LPT Agar para Mesófilos aerobios.

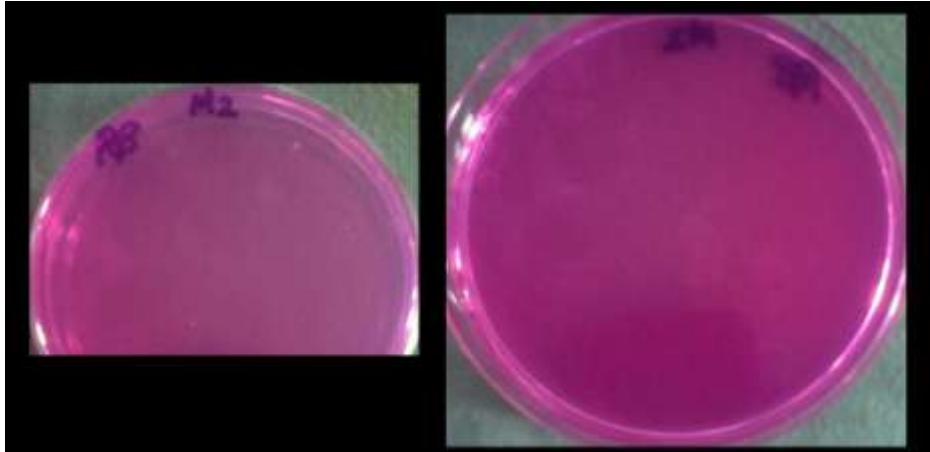


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 2. M2.**

M2 (Muestra 2): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mohos y Levaduras.

Muestra 2. Rosa bengala Agar para Mohos y Levaduras.

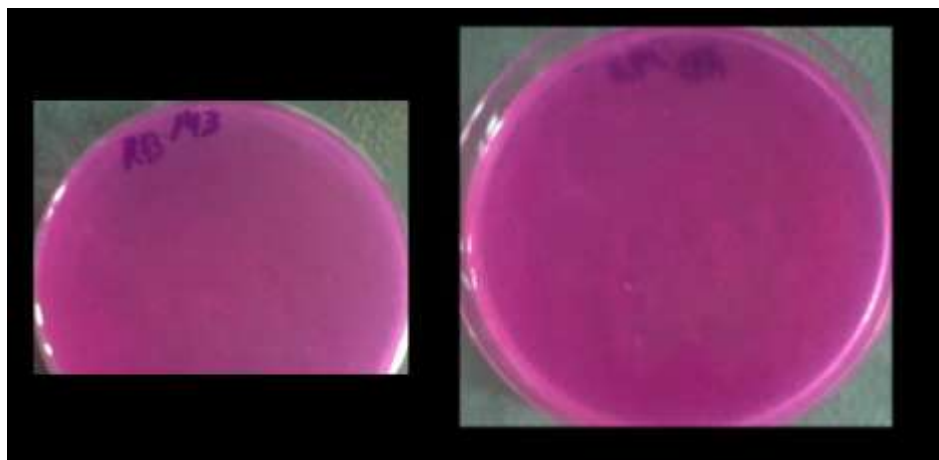


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 3. M3.**

M3 (Muestra 3): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mohos y Levaduras.

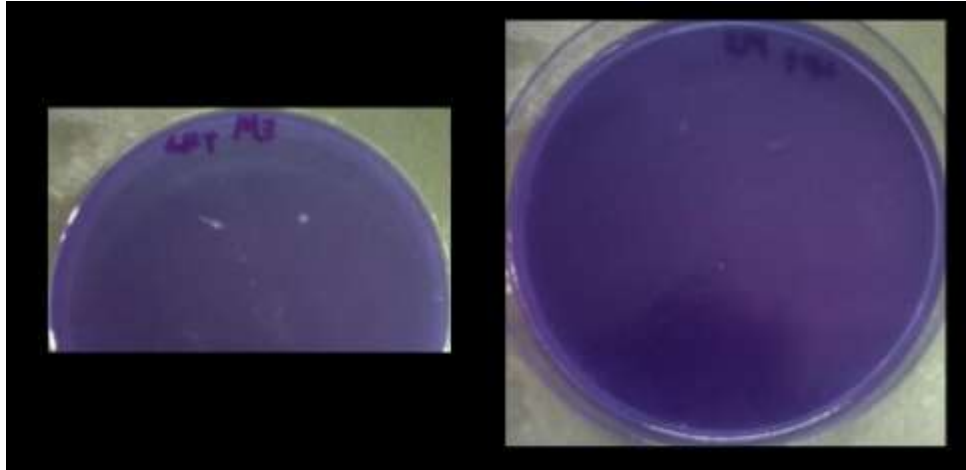
Muestra 3. Rosa bengala Agar para Mohos y Levaduras.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M3 (Muestra 3): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mesófilos aerobios.

Muestra 3. LPT Agar para Mesófilos aerobios.

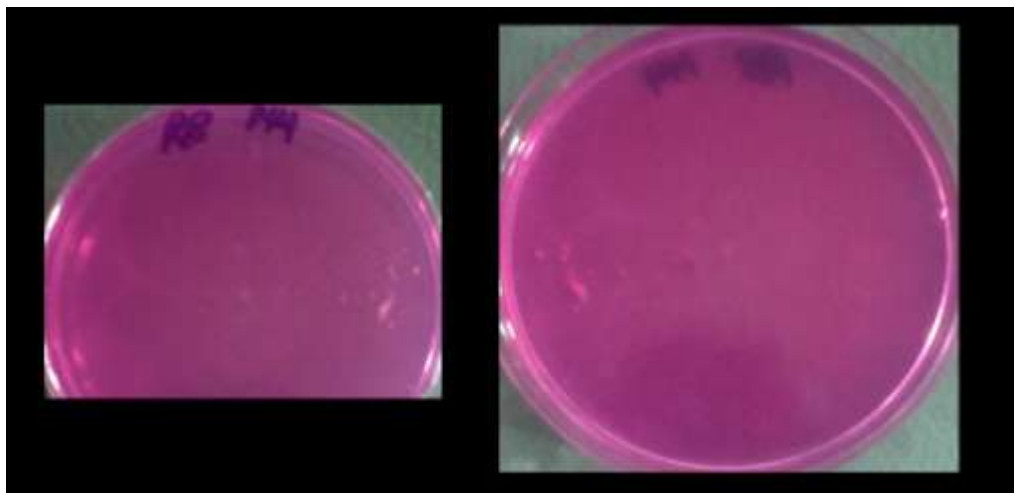


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 4. M4.**

M4 (Muestra 4): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mohos y Levaduras.

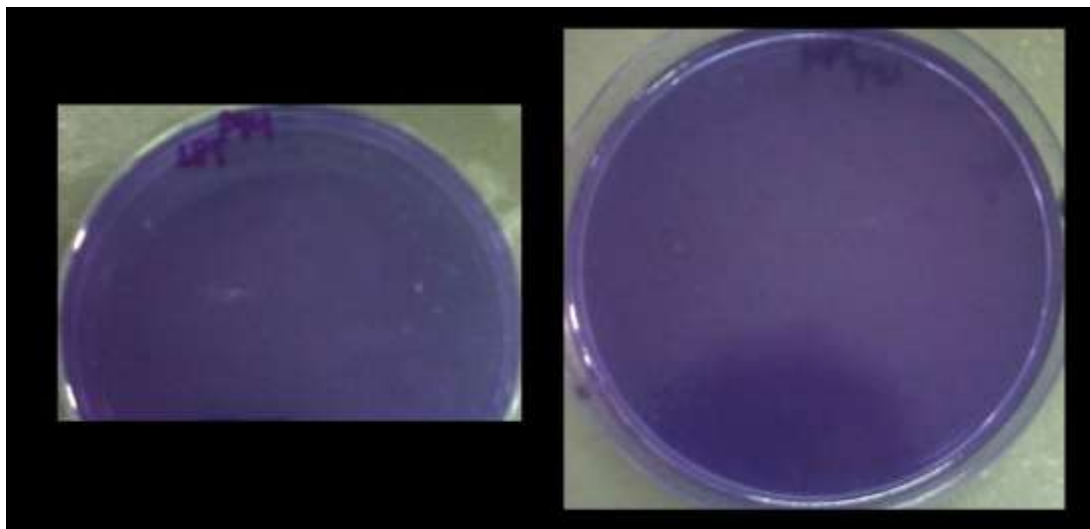
Muestra 4. Rosa bengala Agar para Mohos y Levaduras.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M4 (Muestra 4): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mesófilos aerobios.

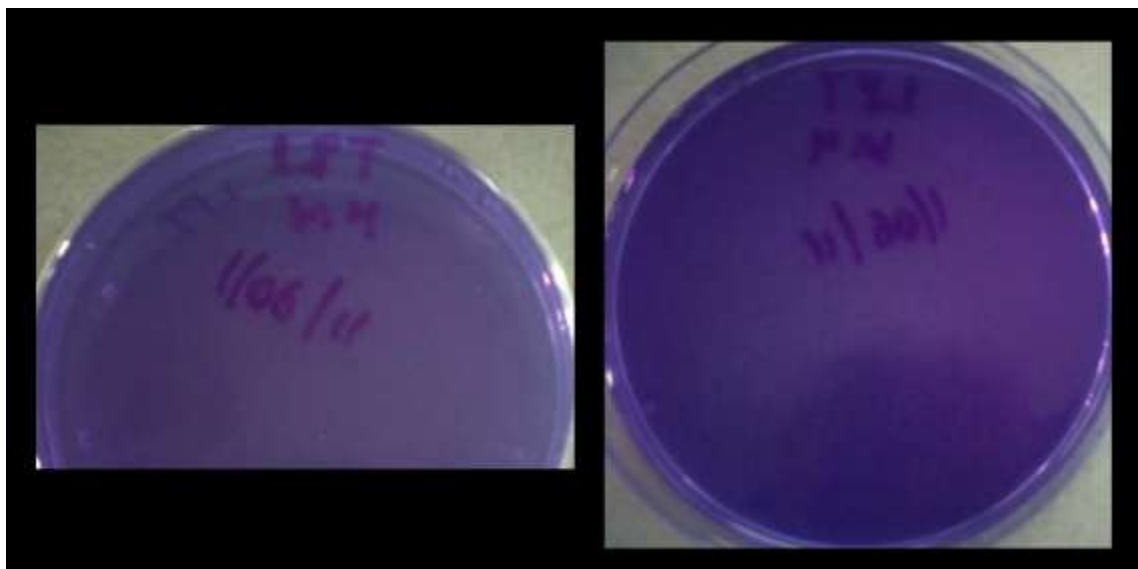
Muestra 4. LPT Agar para Mesófilos aerobios.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M4 (Muestra 4): Se obtuvo crecimiento negativo tras 2 días de incubación para Recuento total, previo enriquecimiento de la muestra en LPT Broth.

Muestra 4. LPT Agar para Recuento total.

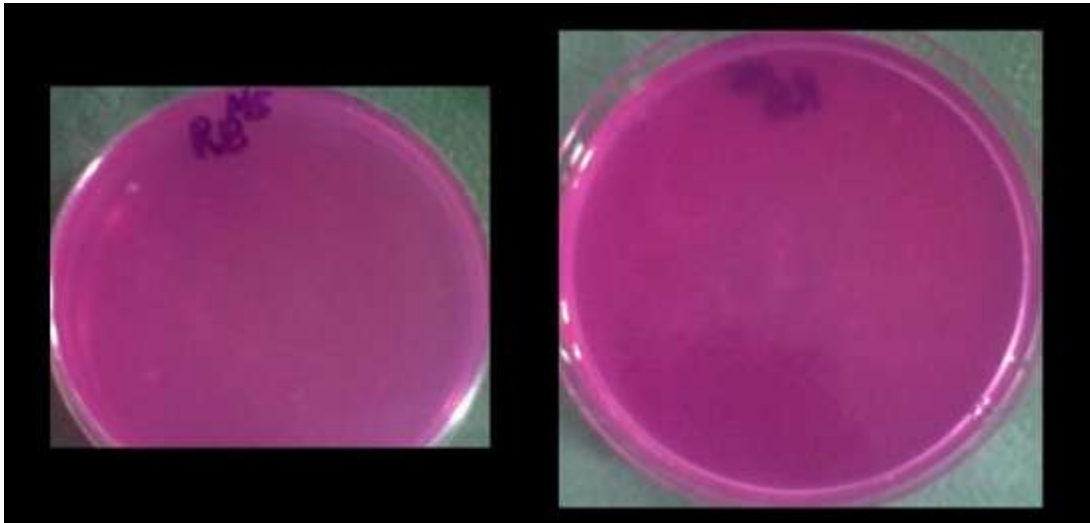


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 5. M5.**

M5 (Muestra 5): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mohos y Levaduras.

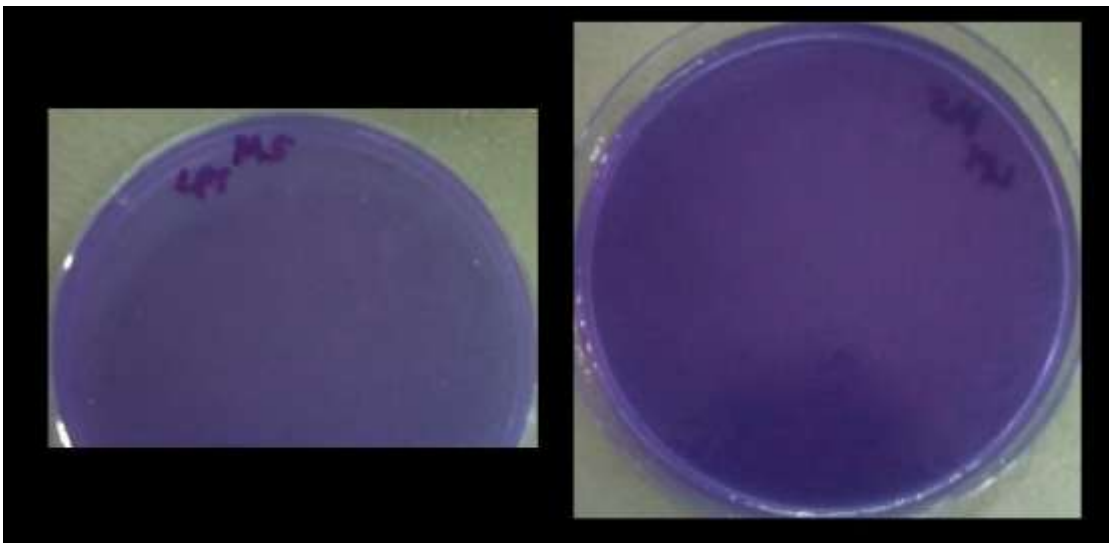
Muestra 5. Rosa bengala Agar para Mohos y Levaduras.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M5 (Muestra 5): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mesófilos aerobios.

Muestra 5. LPT Agar para Mesófilos aerobios.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

CULTIVOS EN MEDIOS ESPECÍFICOS

M1 (Muestra 1): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para Coliformes totales/*Escherichia coli*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

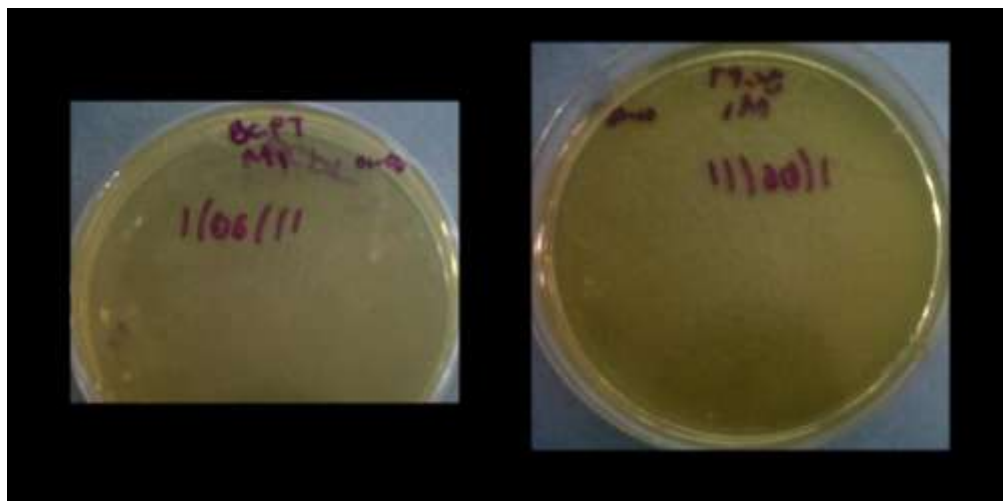
Muestra 1 Mugplus Agar para Coliformes /*Escherichia coli*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M1 (Muestra 1): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Burkholderia cepacia*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

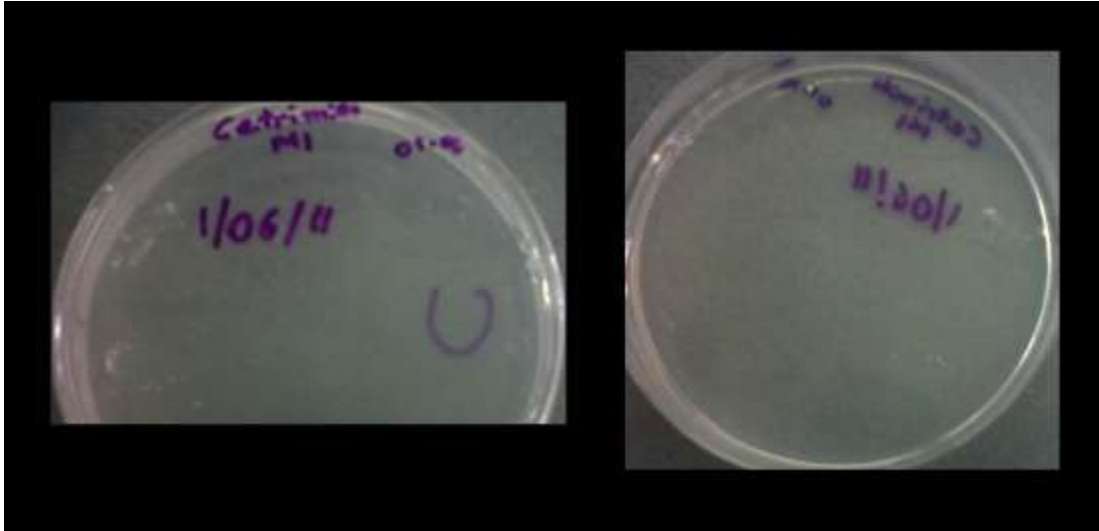
Muestra 1 BCPT Agar para *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M1 (Muestra 1): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Pseudomonas aeruginosa*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

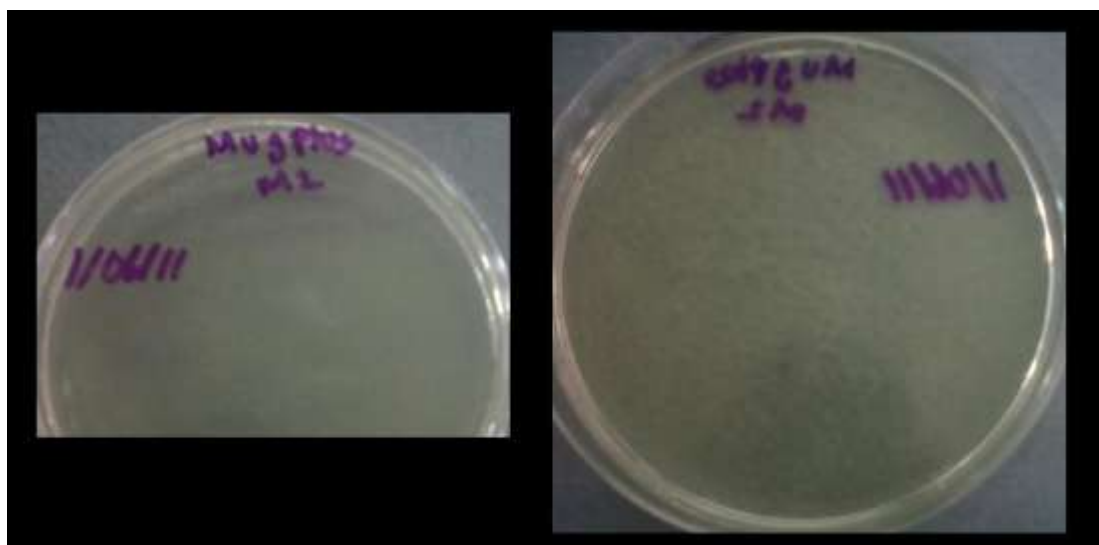
Muestra 1 Cetrimide Agar para *Pseudomonas aeruginosa*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M2 (Muestra 2): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para Coliformes totales/*Escherichia coli*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

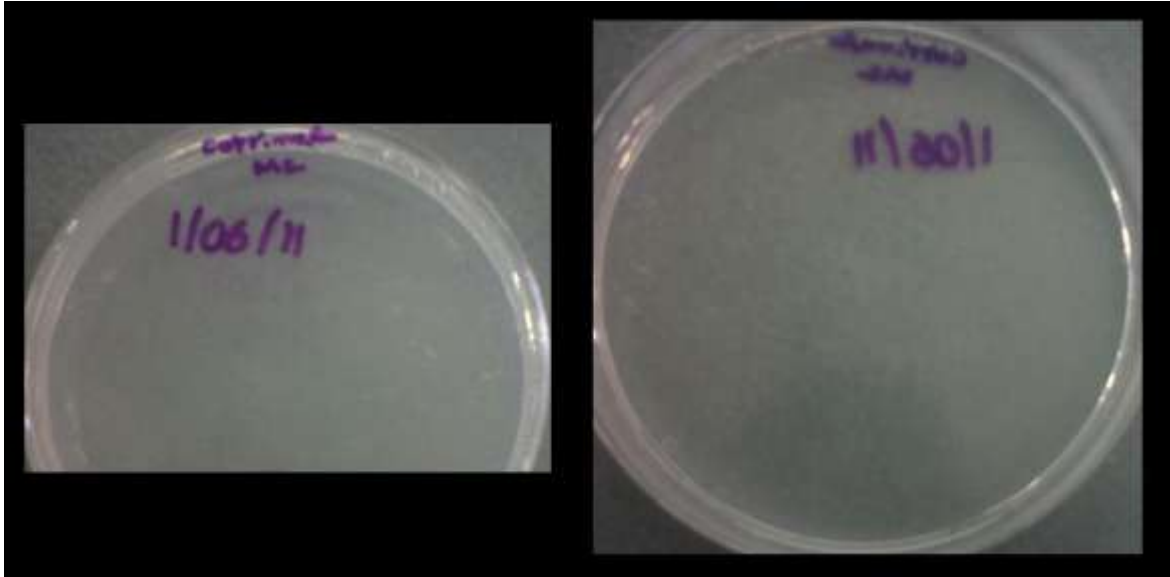
Muestra 2. Mugplus Agar para Coliformes /*Escherichia coli*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M2 (Muestra 2): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Pseudomonas aeruginosa*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

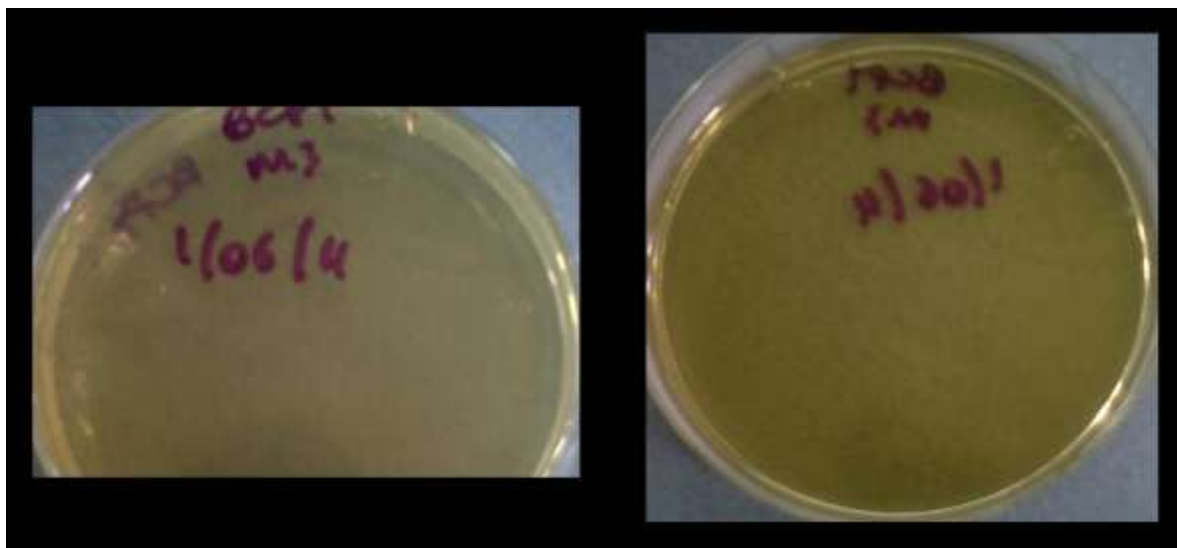
Muestra 2. Cetrimide Agar para *Pseudomonas aeruginosa*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M3 (Muestra 3): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Burkholderia cepacia*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 3. BCPT Agar para *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M3 (Muestra 3): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Pseudomonas aeruginosa*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 3. Cetrimide Agar para *Pseudomonas aeruginosa*.

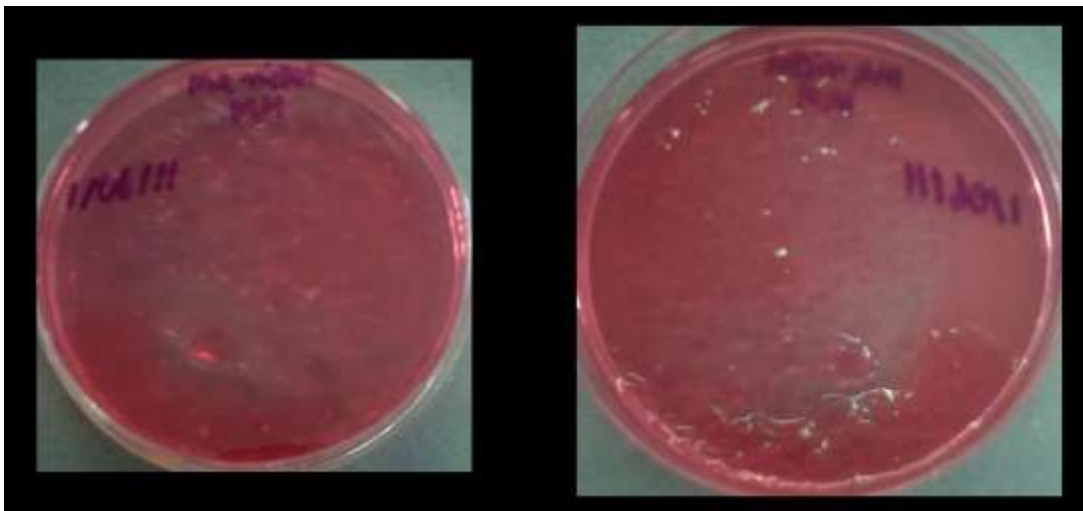


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 4. M4.**

M4 (Muestra 4): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Staphylococcus aureus*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

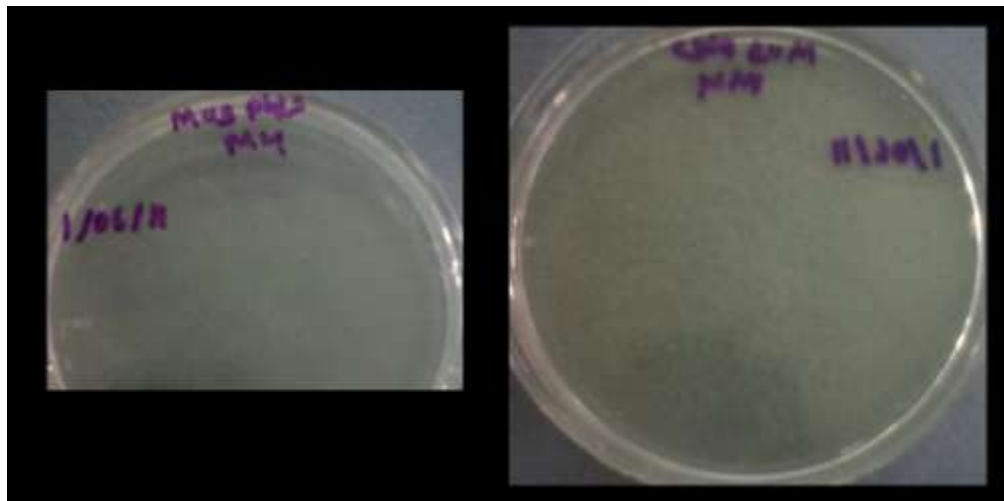
Muestra 4. Manitol Agar para *Staphylococcus aureus*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M4 (Muestra 4): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para Coliformes totales/*Escherichia coli*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

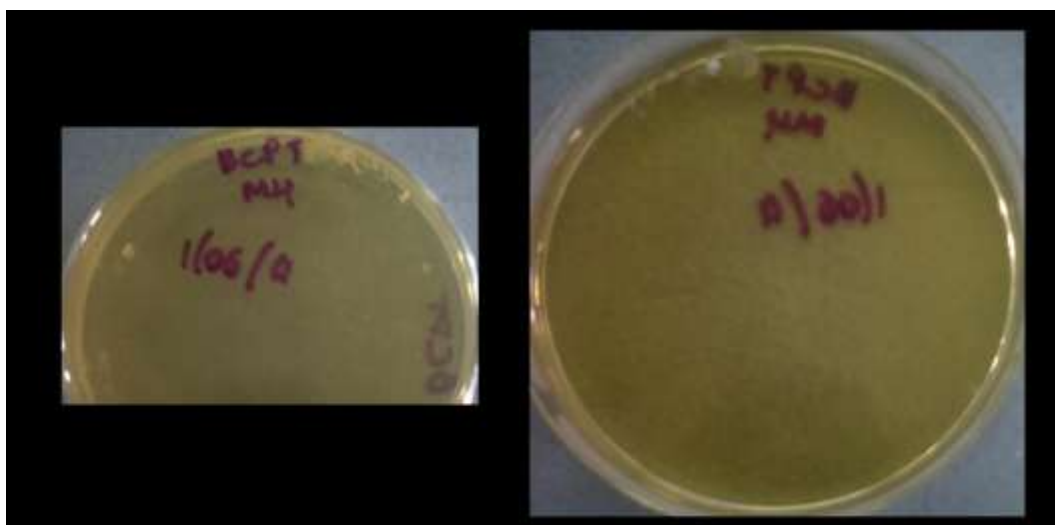
Muestra 4. Mugplus Agar para Coliformes /*Escherichia coli*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M4 (Muestra 4): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Burkholderia cepacia*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

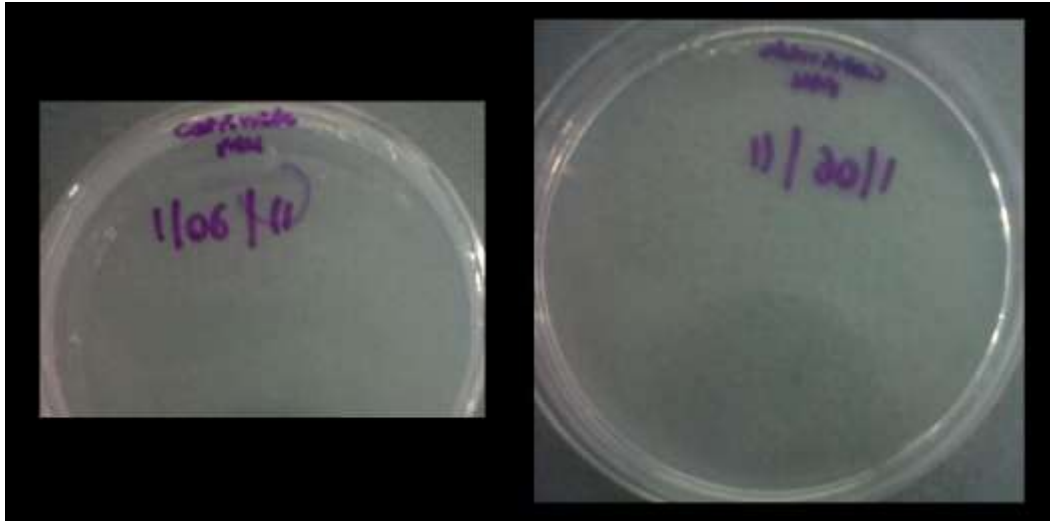
Muestra 4. BCPT Agar para *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M4 (Muestra 4): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Pseudomonas aeruginosa*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 4. Cetrimide Agar para *Pseudomonas aeruginosa*.

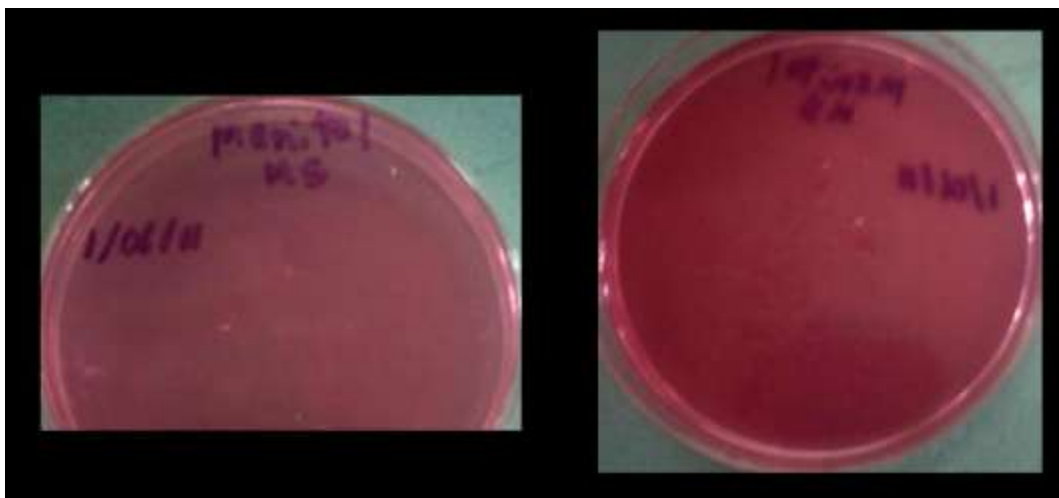


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 5. M5.**

M5 (Muestra 5): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Staphylococcus aureus*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

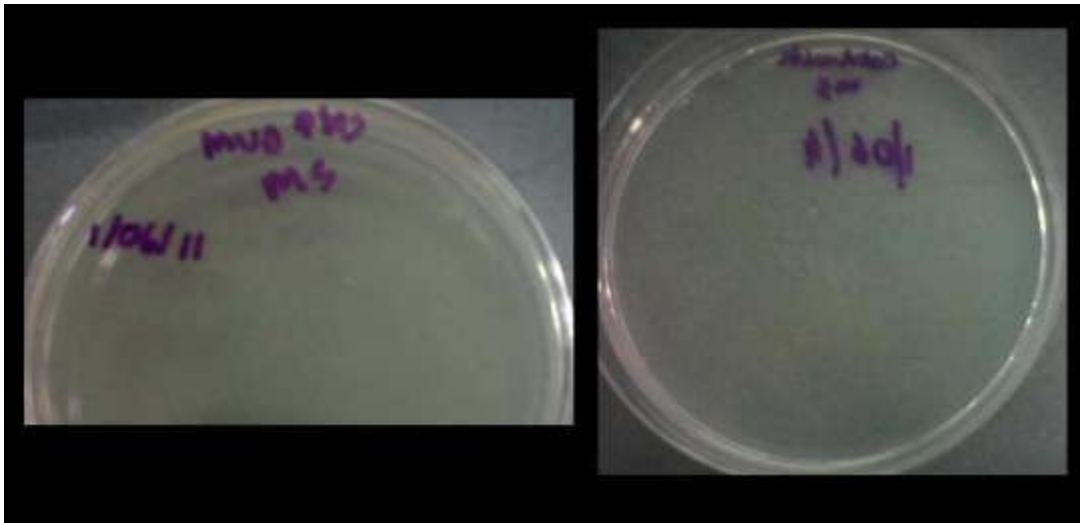
Muestra 5. Manitol Agar para *Staphylococcus aureus*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M5 (Muestra 5): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para Coliformes totales/*Escherichia coli*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 5. Mugplus Agar para Coliformes /*Escherichia coli*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M5 (Muestra 5): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Burkholderia cepacia*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

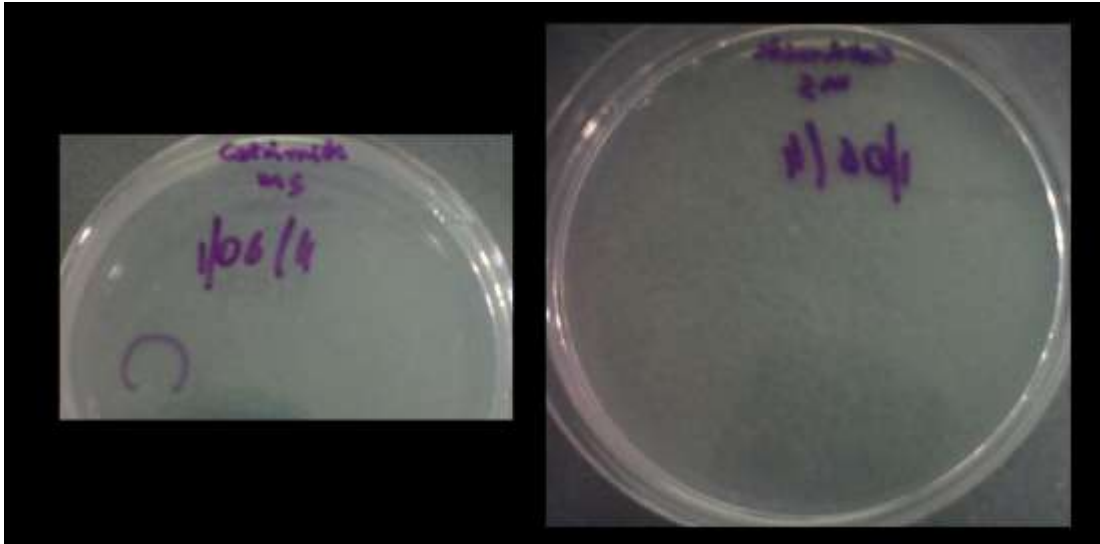
Muestra 5. BCPT Agar para *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M5 (Muestra 5): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Pseudomonas aeruginosa*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 5. Cetrimide Agar para *Pseudomonas aeruginosa*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

ANEXO 9. Fotografías productos del Fabricante 2 resultados negativos.

- **Muestra 6. M6.**

M6 (Muestra 6): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mohos y Levaduras.

Muestra 6. Rosa bengala Agar para Mohos y Levaduras. Tomada ABAC.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M6 (Muestra 6): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mesófilos aerobios.

Muestra 6. LPT Agar para Mesófilos aerobios.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M6 (Muestra 6): Se obtuvo crecimiento negativo tras 2 días de incubación para Recuento total luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 6. LPT Agar para Recuento total.

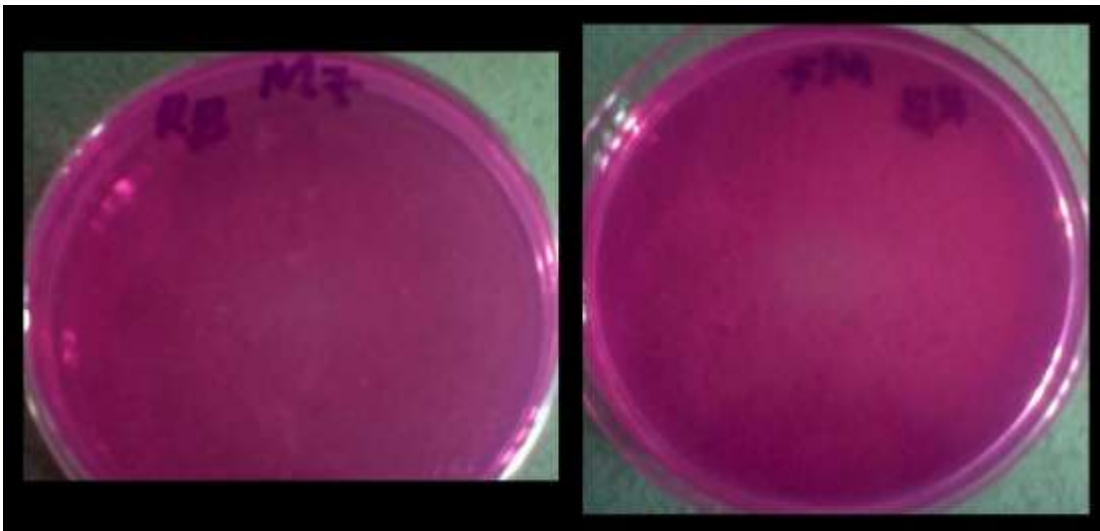


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 7. M7.**

M7 (Muestra 7): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mohos y Levaduras.

Muestra 7. Rosa bengala Agar para Mohos y Levaduras.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M7 (Muestra 7): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g, de 3 a 5 días de incubación para Mesófilos aerobios.

Muestra 7. LPT Agar para Mesófilos aerobios.

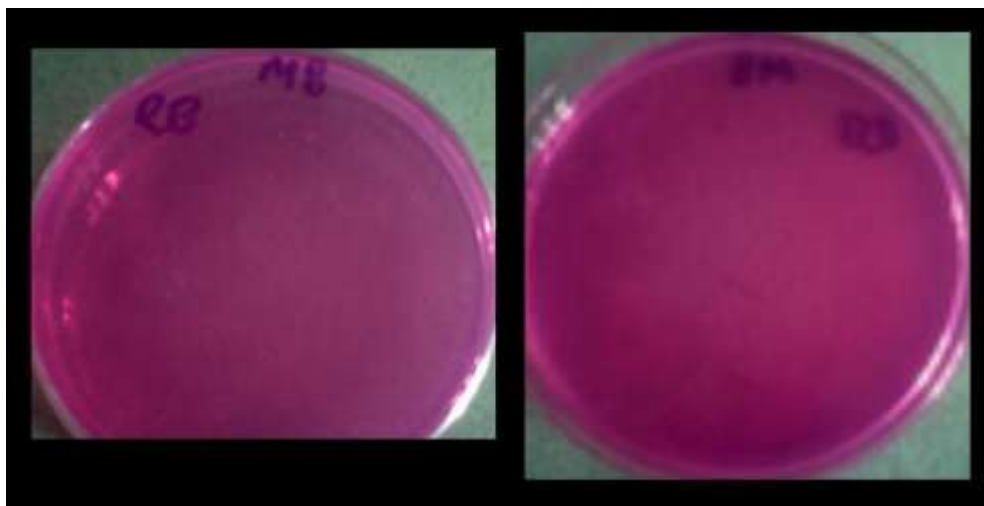


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 8. M8.**

M8 (Muestra 8): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mohos y Levaduras.

Muestra 8. Rosa bengala Agar para Mohos y Levaduras.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M8 (Muestra 8): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mesófilos aerobios

Muestra 8. LPT Agar para Mesófilos aerobios.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M8 (Muestra 8): Se obtuvo crecimiento negativo tras 2 días de incubación para Recuento total, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 8. LPT Agar para Recuento total.

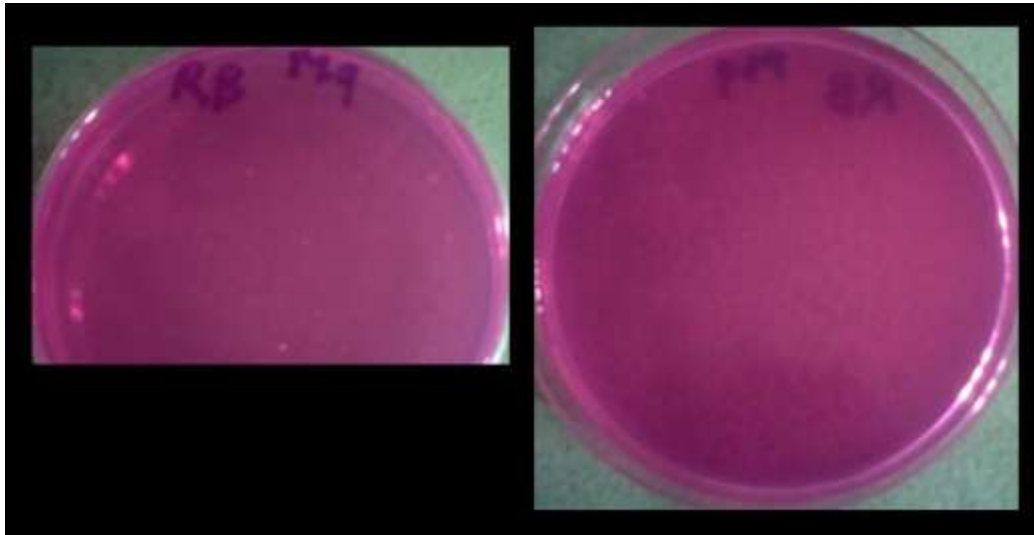


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 9. M9.**

M9 (Muestra 9): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mohos y Levaduras.

Muestra 9. Rosa bengala Agar para Mohos y Levaduras.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M9 (Muestra 9): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mesófilos aerobios.

Muestra 9. LPT Agar para Mesófilos aerobios.

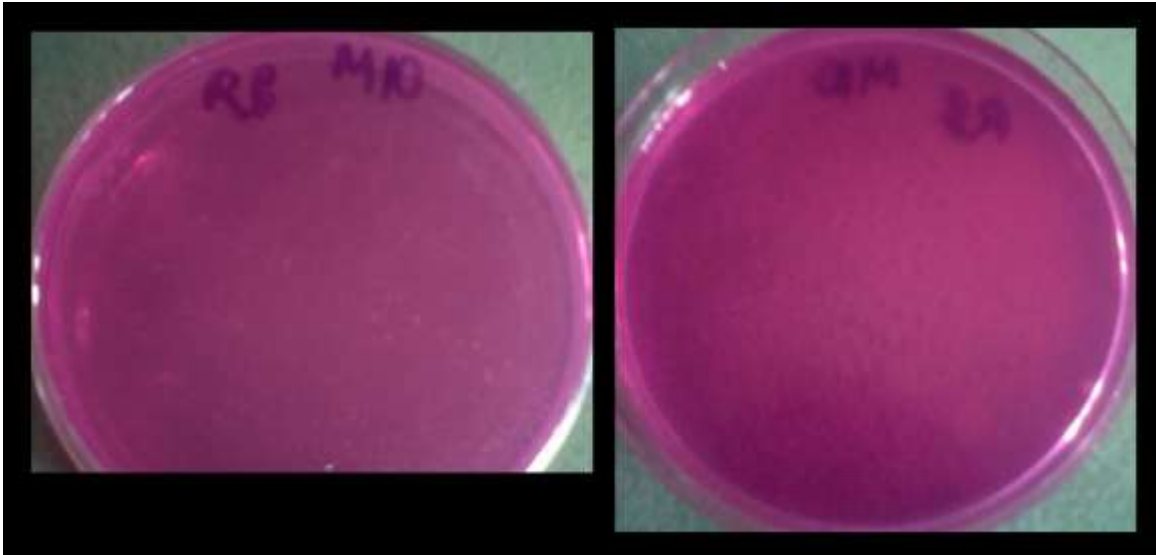


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 10. M10.**

M10 (Muestra 10): Se obtuvo crecimiento <100 UFC/mL ó g de 3 a 5 días de incubación para Mohos y Levaduras.

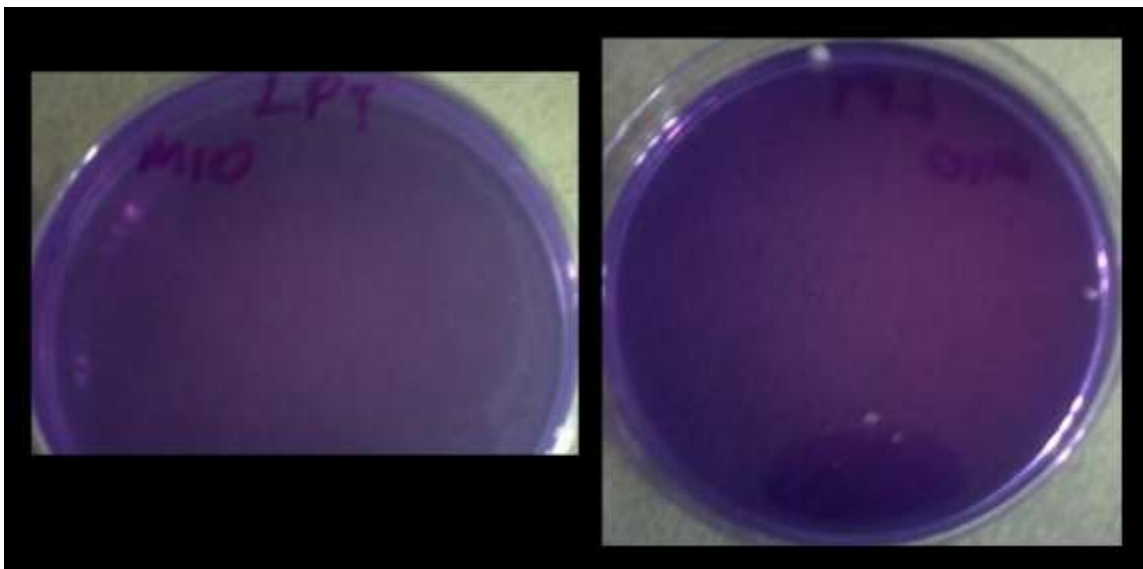
Muestra 10. Rosa bengala Agar para Mohos y Levaduras.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M10 (Muestra 10): Se obtuvo crecimiento negativo tras 2 días de incubación para Recuento total, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Fig. 71. Muestra 10. LPT Agar para Recuento total. Tomada ABAC.

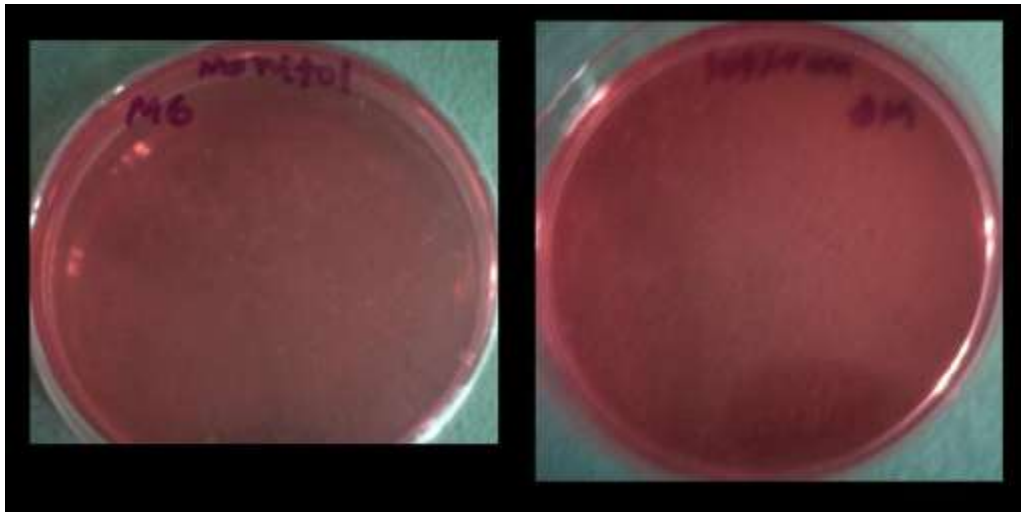


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

CULTIVOS EN MEDIOS ESPECÍFICOS

- **Muestra 6. M6**

M6 (Muestra 6): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Staphylococcus aureus*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.
Muestra 6 Manitol Agar para *Staphylococcus aureus*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M6 (Muestra 6): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Candida albicans*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

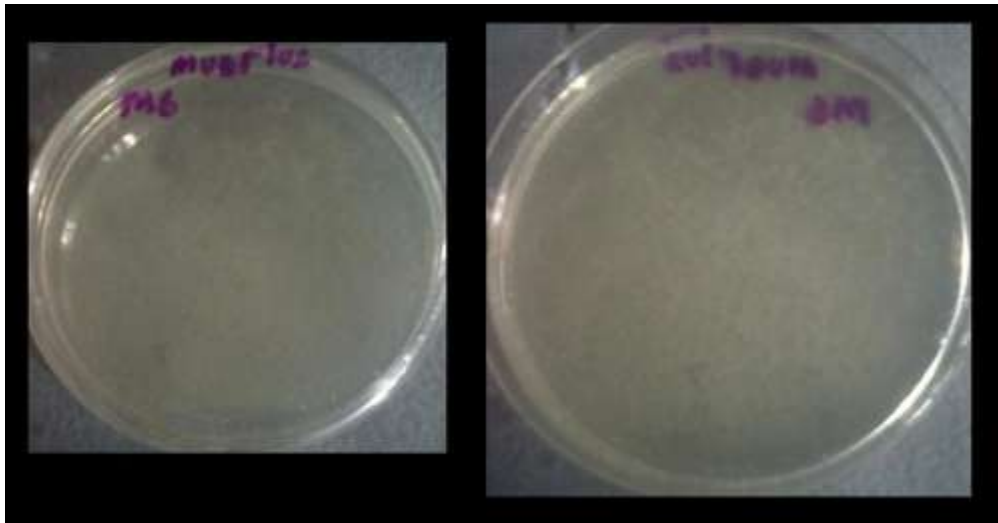
Muestra 6 Biggy Agar para *Candida albicans*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M6 (Muestra 6): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para Coliformes totales/*Escherichia coli*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

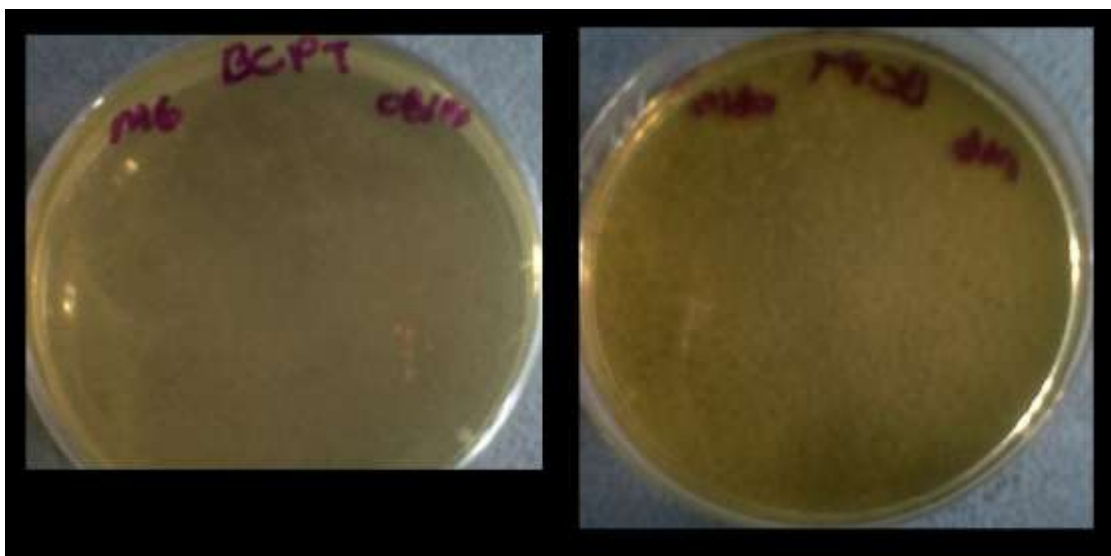
Muestra 6 Mugplus Agar para Coliformes /*Escherichia coli*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M6 (Muestra 6): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Burkholderia cepacia*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

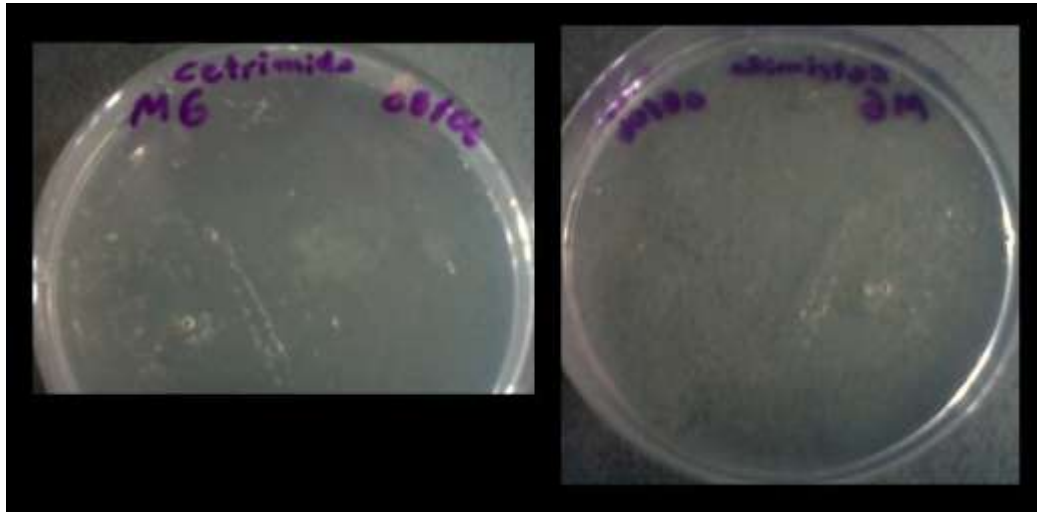
Muestra 6 BCPT Agar para *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M6 (Muestra 6): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Pseudomonas aeruginosa*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 6 Cetrimide Agar para *Pseudomonas aeruginosa*.

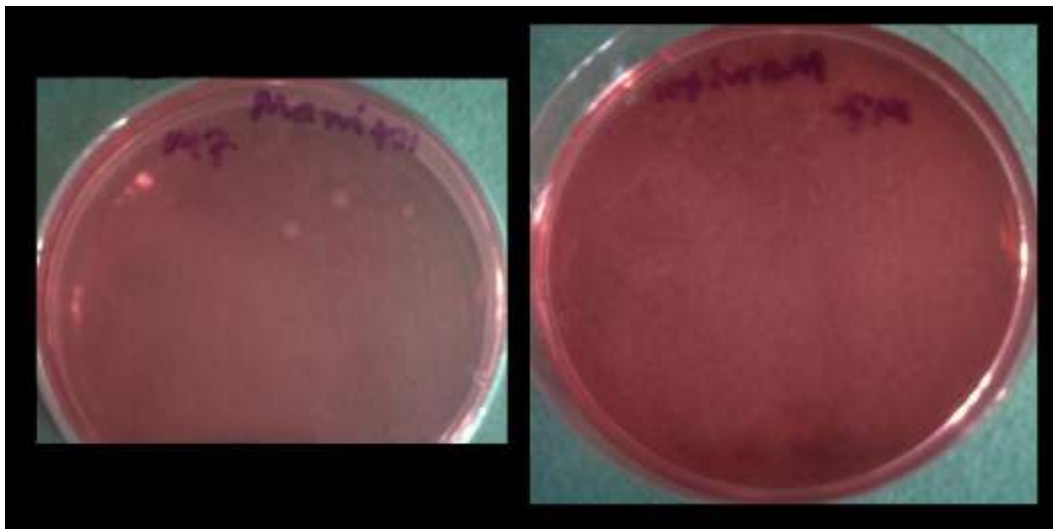


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 7. M7.**

M7 (Muestra 7): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Staphylococcus aureus*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 7 Manitol Agar para *Staphylococcus aureus*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M7 (Muestra 7): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Candida albicans*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

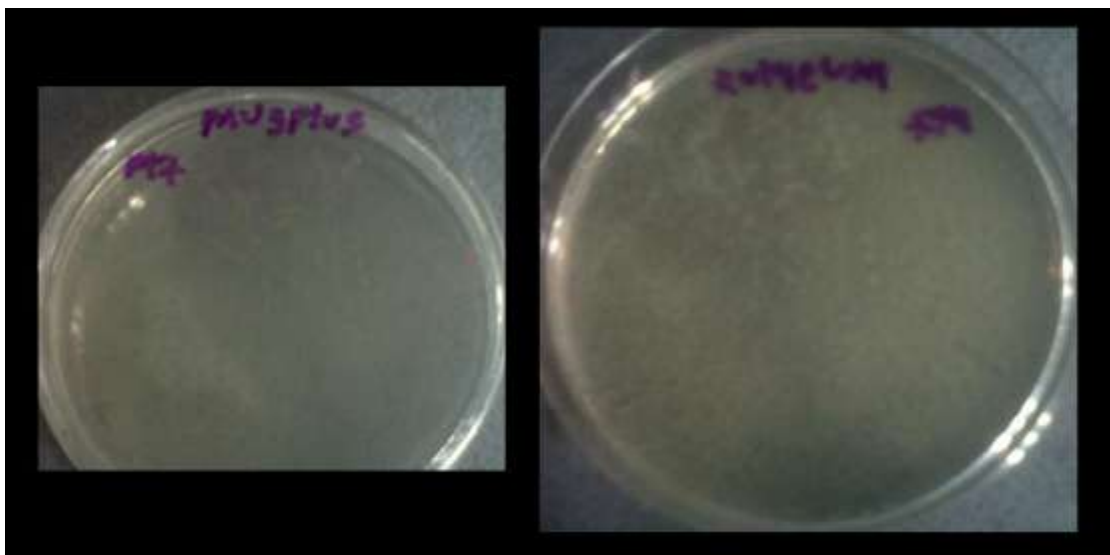
Muestra 7 Biggy Agar para *Candida albicans*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M7 (Muestra 7): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para Coliformes totales/*Escherichia coli*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

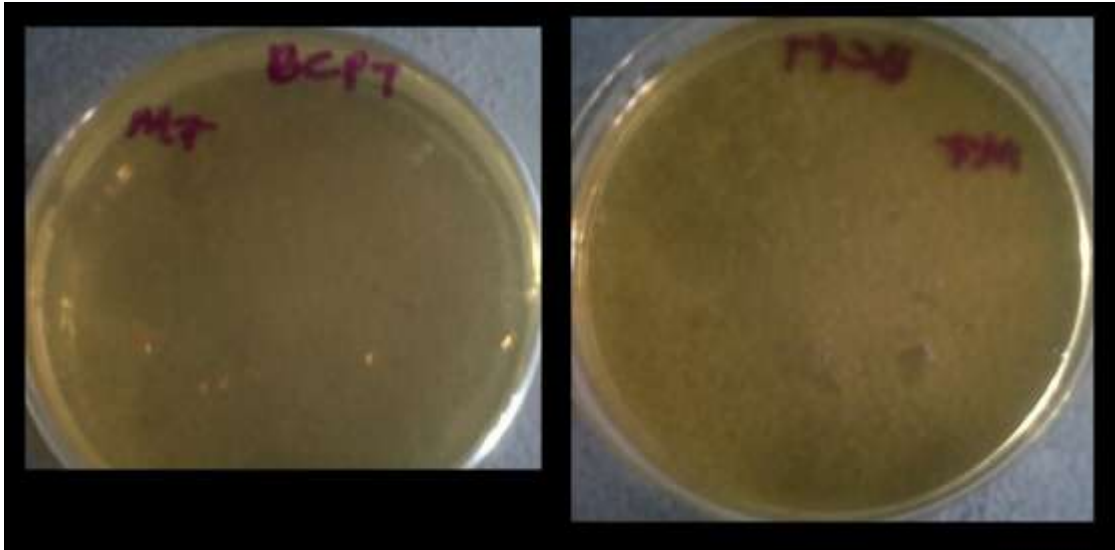
Muestra 7. Mugplus Agar para Coliformes /*Escherichia coli*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M7 (Muestra 7): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Burkholderia cepacia*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

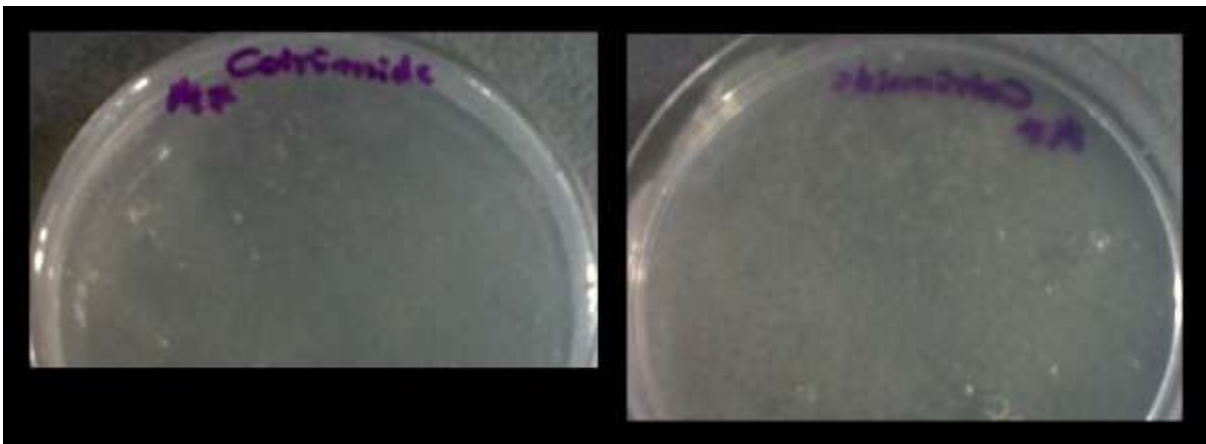
Muestra 7. BCPT Agar para *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M7 (Muestra 7): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Pseudomonas aeruginosa*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 7. Cetrimide Agar para *Pseudomonas aeruginosa*.

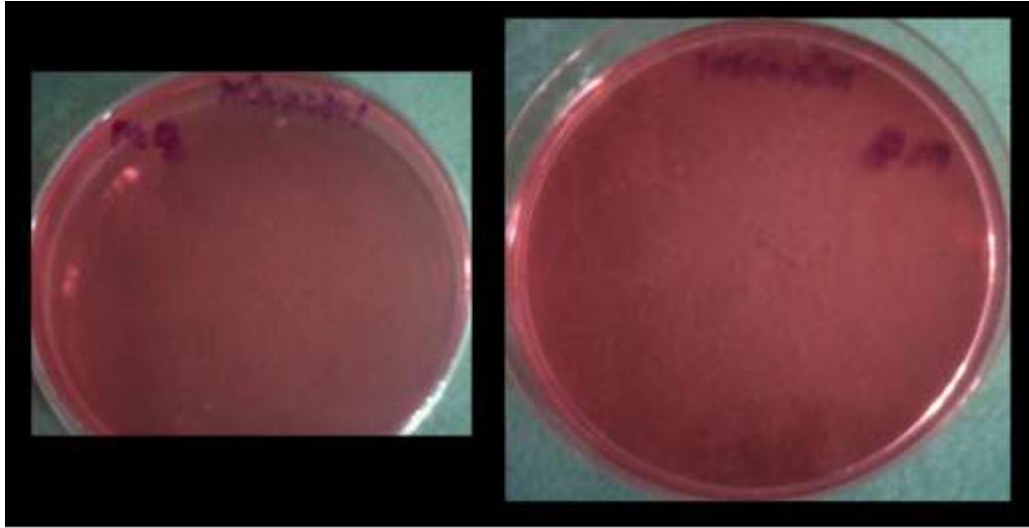


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 8. M8.**

M8 (Muestra 8): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Staphylococcus aureus*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 8. Manitol Agar para *Staphylococcus aureus*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M8 (Muestra 8): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Candida albicans*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

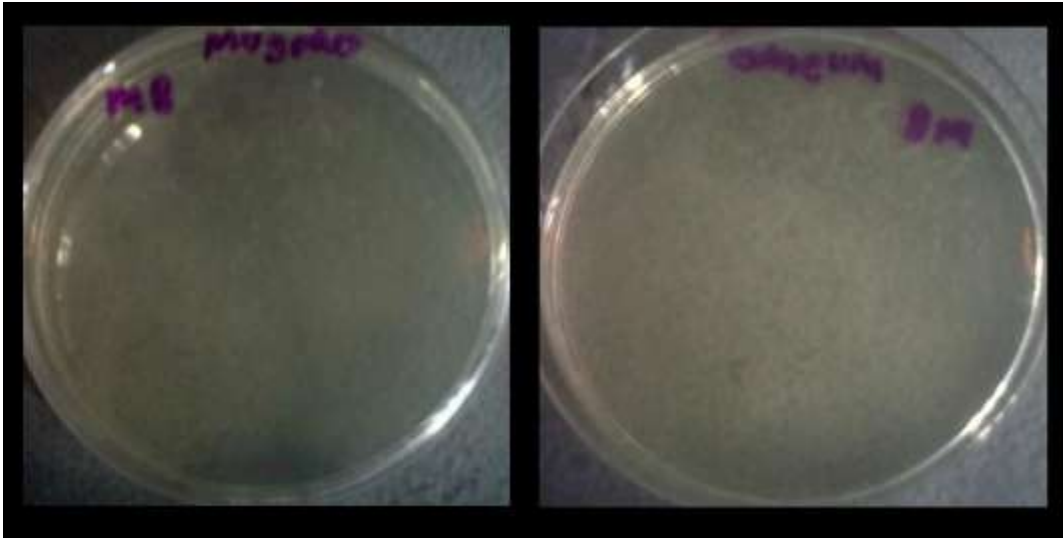
Muestra 8 Biggy Agar para *Candida albicans*..



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M8 (Muestra 8): No se obtuvo crecimiento 24h a 48h de incubación para Coliformes totales/*Escherichia coli*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

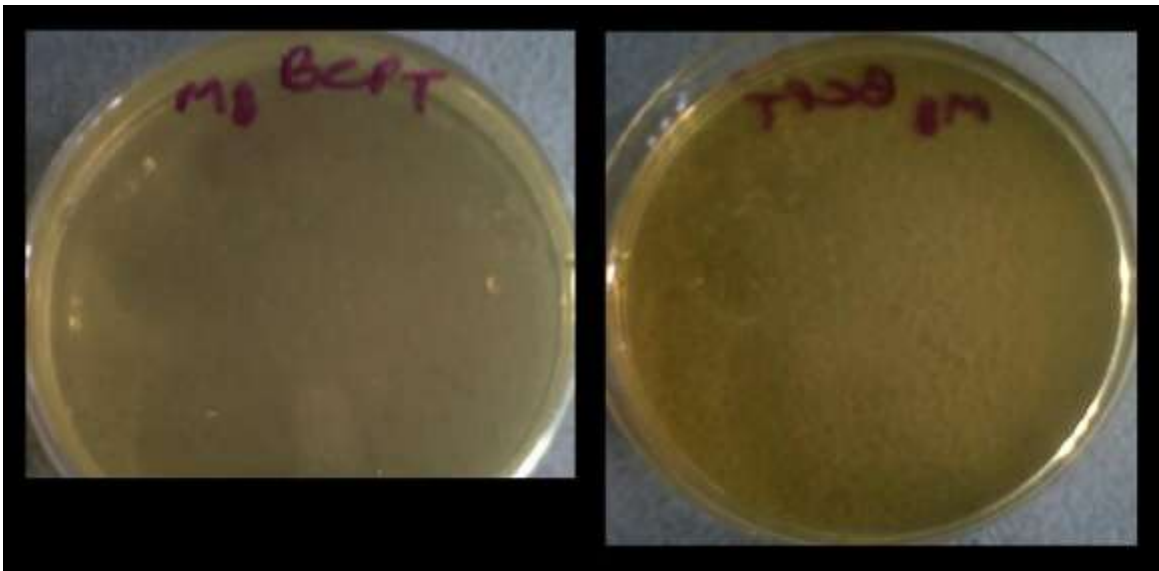
Muestra 8. Mugplus Agar para Coliformes /*Escherichia coli*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M8 (Muestra 8): No se obtuvo crecimiento 24h a 48h de incubación para *Burkholderia cepacia*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

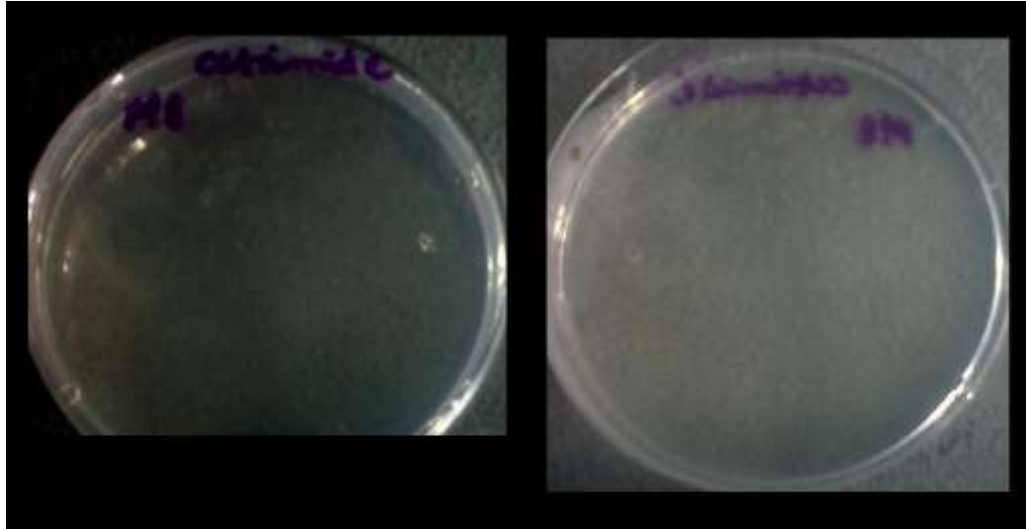
Muestra 8. BCPT Agar para *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M8 (Muestra 8): No se obtuvo crecimiento 24h a 48h de incubación para *Pseudomonas aeruginosa*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 8. Cetrímide Agar para *Pseudomonas aeruginosa*.

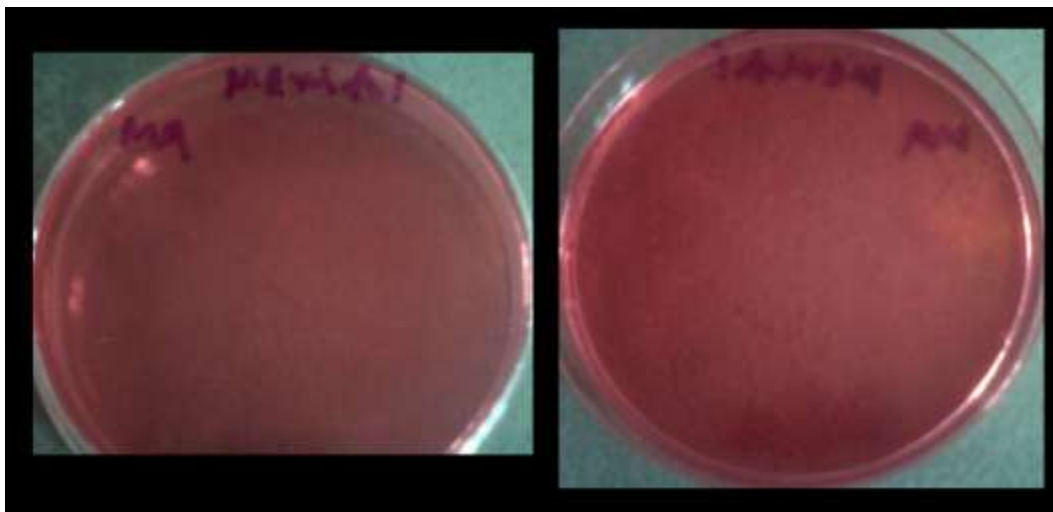


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 9. M9.**

M9 (Muestra 9): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Staphylococcus aureus*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 9. Manitol Agar para *Staphylococcus aureus*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M9 (Muestra 9): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Candida albicans*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

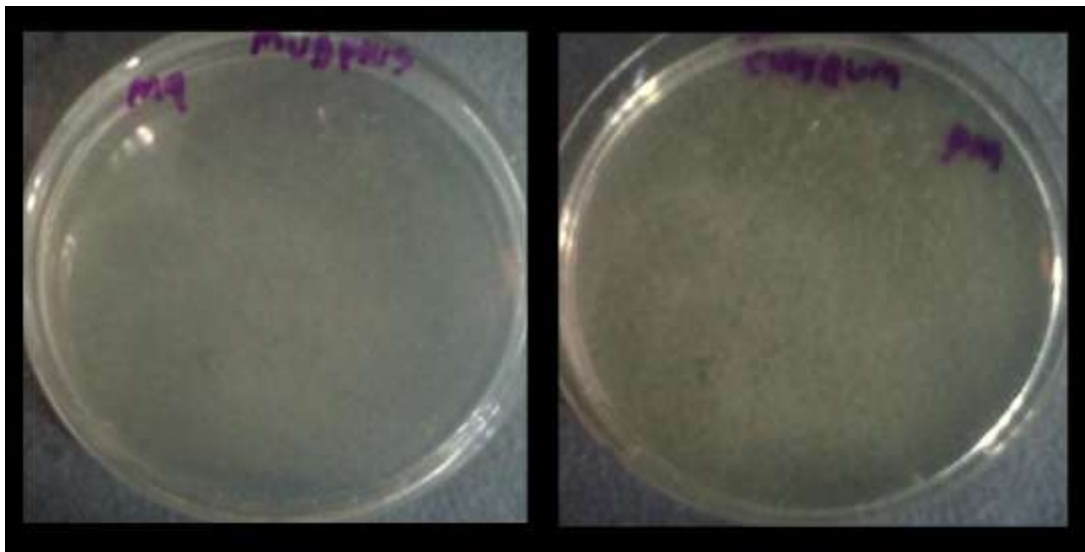
Muestra 9. Biggy Agar para *Candida albicans*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M9 (Muestra 9): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para Coliformes totales/*Escherichia coli*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

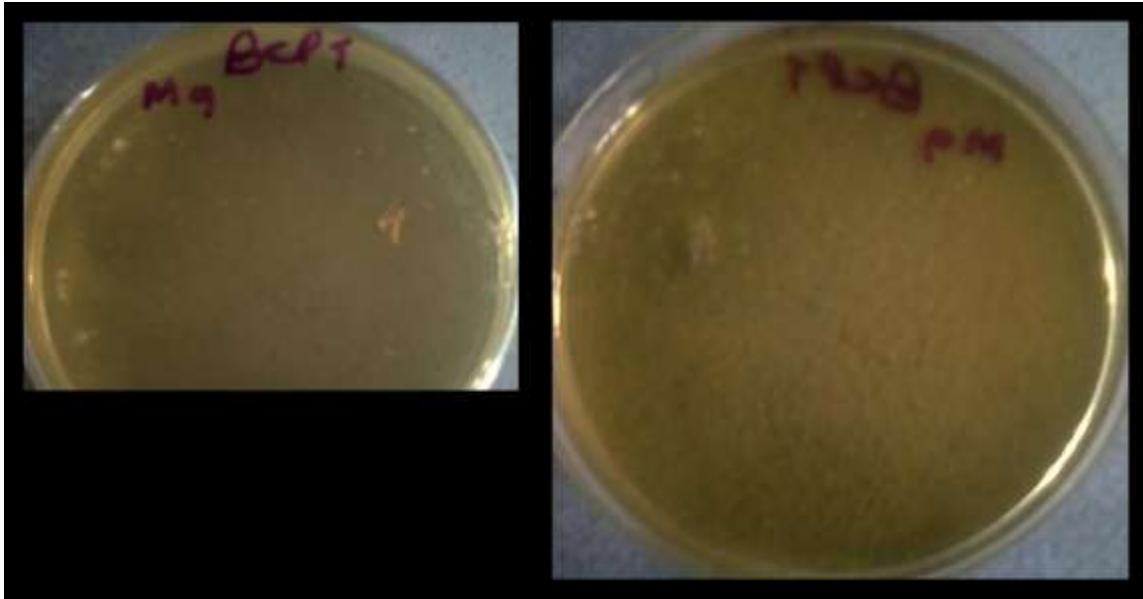
Muestra 9. Mugplus Agar para Coliformes /*Escherichia coli*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M9 (Muestra 9): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Burkholderia cepacia*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

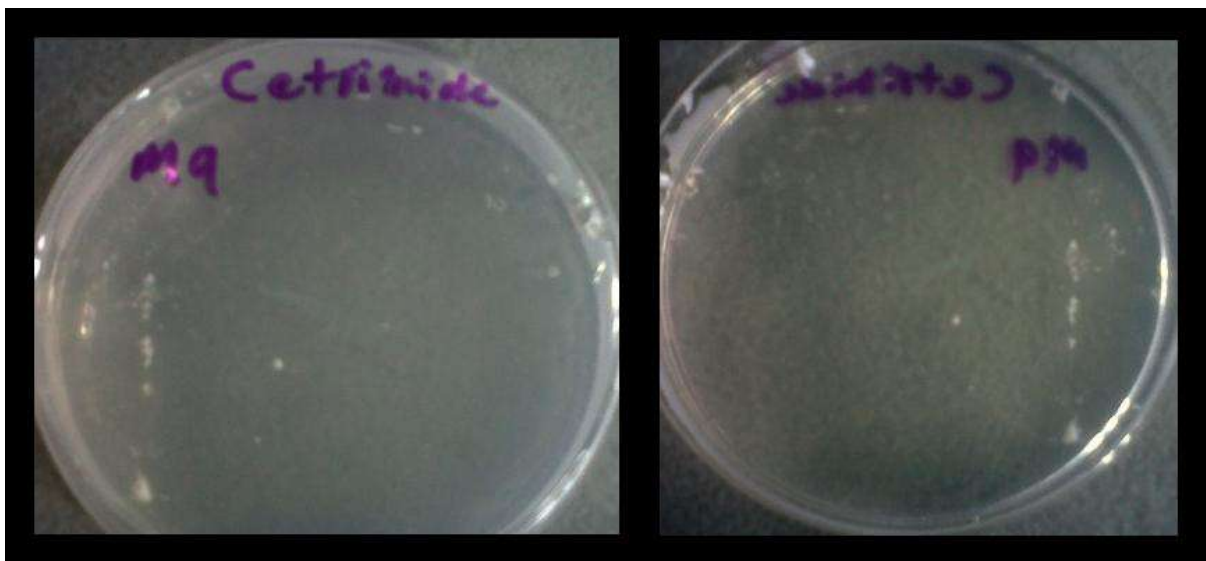
Muestra 9. BCPT Agar para *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M9 (Muestra 9): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Pseudomonas aeruginosa*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 9. Cetrinide Agar para *Pseudomonas aeruginosa*.

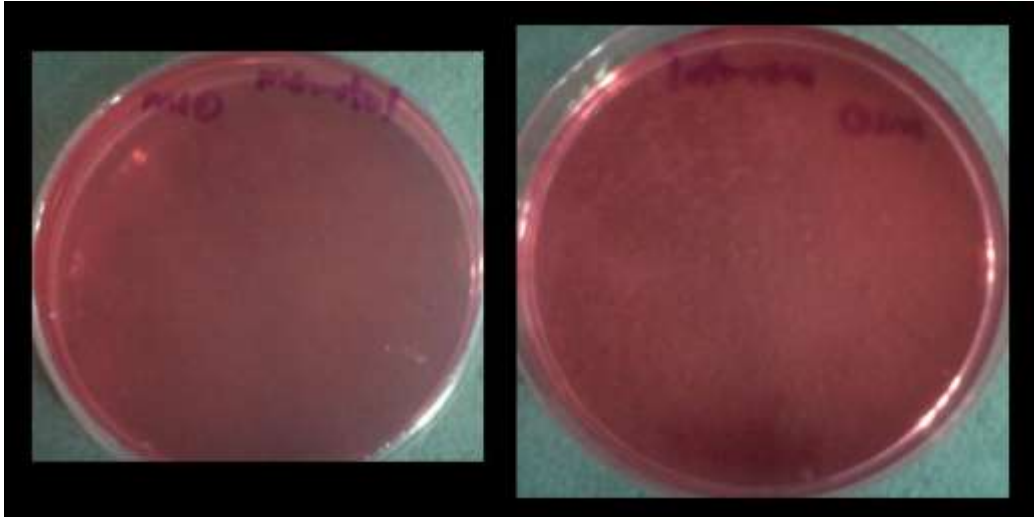


Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

- **Muestra 10. M10.**

M10 (Muestra 10): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Staphylococcus aureus*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 10. Manitol Agar para *Staphylococcus aureus*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M10 (Muestra 10): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Candida albicans*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

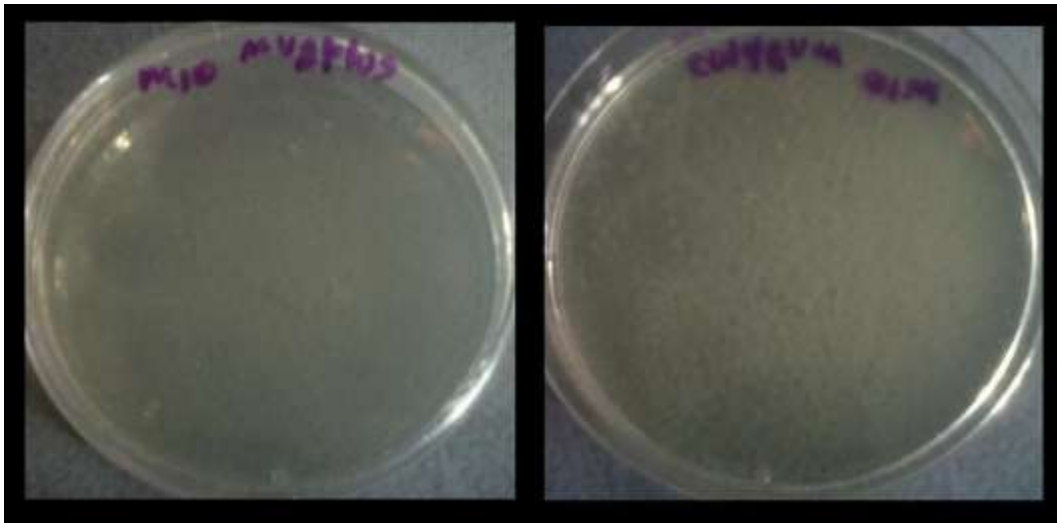
Muestra 10. Biggy Agar para *Candida albicans*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M10 (Muestra 10): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para Coliformes totales/*Escherichia coli*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

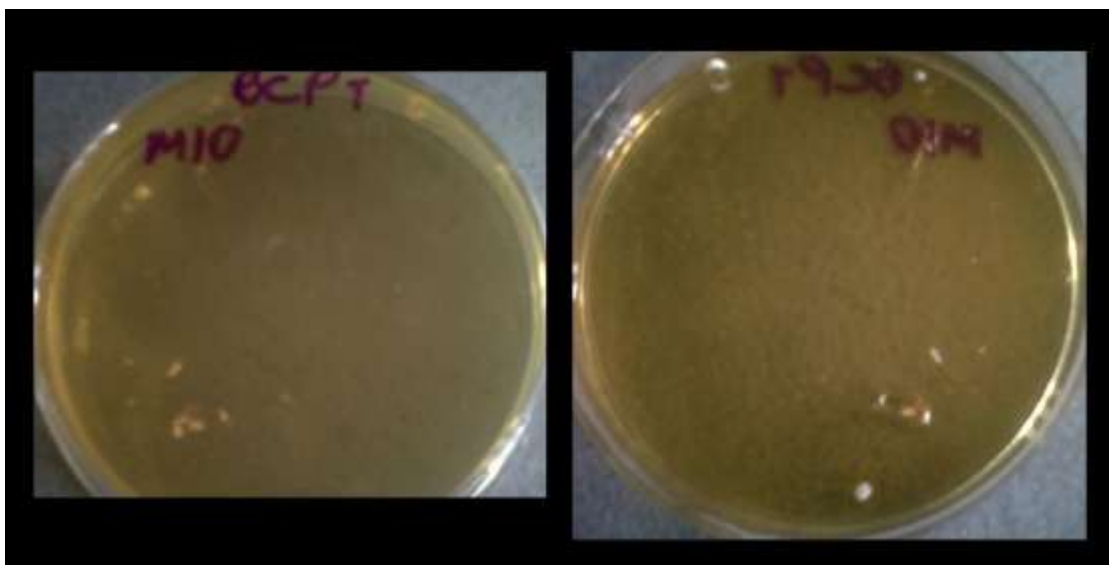
Muestra 10. Mugplus Agar para Coliformes /*Escherichia coli*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M10 (Muestra 10): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Burkholderia cepacia*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

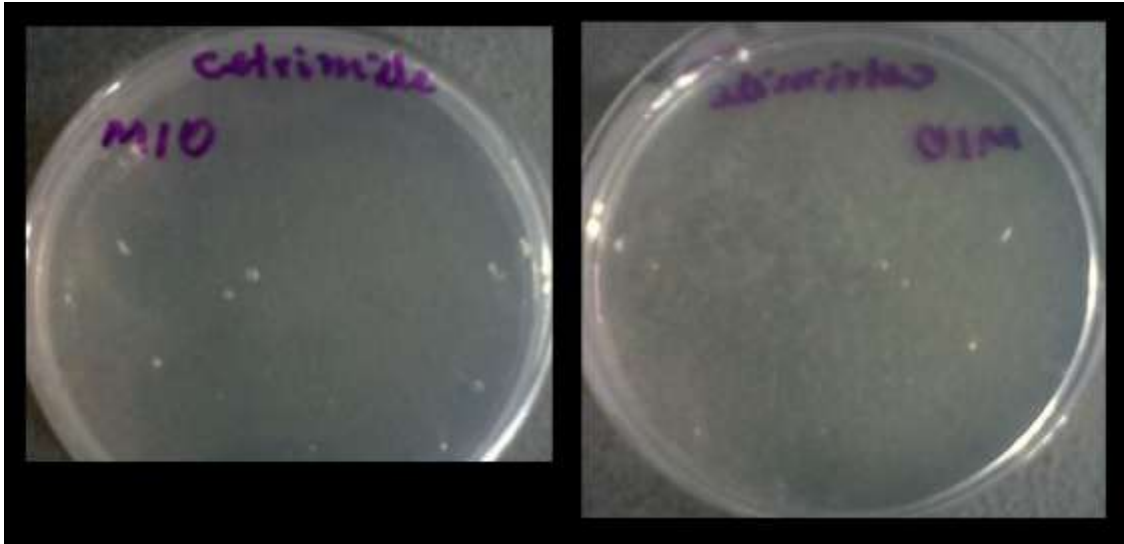
Muestra 10. BCPT Agar para *Burkholderia cepacia*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo

M10 (Muestra 10): No se obtuvo crecimiento tras 24h a 48h de incubación para *Pseudomonas aeruginosa*, luego de que la muestra fue enriquecida en LPT Broth.

Muestra 10. Ceftrimide Agar para *Pseudomonas aeruginosa*.



Tomado por Ana C. Andrade y Ana B. Valdiviezo