

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA



COMPROBACION DE LA ACCION ANTIMICRO-
BIANA NIPAGIN, NIPASOL Y TIMEROSAL EN
ALGUNAS CREMAS COSMETICAS

MA. DE LOURDES ORTEGA VACA

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

MEXICO, D. F.

1979



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

LAS TESIS 1979
DE M.T. ~~266~~ 266
FECHA _____
PROC _____
• _____



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"COMPROBACION DE LA ACCION ANTIMICROBIANA DE NIPAGIN, NIPASOL Y TIMEROSAL EN ALGUNAS CREMAS COSMETICAS"

TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE Q.F.B.

PRESENTADA POR MA. DE LOURDES ORTEGA VACA

MEXICO, D.F.

1979

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE

PRESIDENTE	PROFESORA: SARA MANRIQUE REGIL
VOCAL	PROFESORA: ETHELVINA MEDRANO DE JAIMES
SECRETARIO	PROFESOR: M. ANGEL CEVALLOS LEAL
1er.SUPLENTE	PROFESORA: OLGA VELAZQUEZ MADRAZO
2do.SUPLENTE	PROFESORA: LILIA VIerna DE GARCIA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA, CONTROL DE CALIDAD DE LA COMPANIA MEDICINAL "LA CAMPANA, S.A. de C.V."

SUSTENTANTE: MA. DE LOURDES ORTEGA VACA
ASESOR DEL TEMA: ETHELVINA MEDRANO DE JAIMES

A tí SENOR:

Que con tu amor me
iluminaste y me diste tiempo
para encontrar la felicidad
en mi profesión.

Con gran amor y gratitud
a mis queridos padres
Miquel y Elisa

Con cariño a mis
hermanos.

Con amor y cariño a Fco. X.
Pimentel que por su apoyo
moral hizo realidad una
de mis grandes ilusiones.

Al H. Jurado.

INDICE

CAPITULO I

INTRODUCCION

Página

1

CAPITULO II

GENERALIDADES

3

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

Método usado

9

Pruebas y análisis

17

CAPITULO IV

RESULTADOS

41

CAPITULO V

CONCLUSIONES

74

BIBLIOGRAFIA

77

C A P I T U L O I

INTRODUCCION

El objetivo de este trabajo es comprobar, por un método microbiológico, el efecto de unos conservadores y mezcla de éstos, en algunos productos cosméticos, frente a determinados microorganismos.

Este método fue propuesto por la casa ma tríz de una compañía de productos cosméticos y se rea lizó en virtud a la solicitud del Depto. de Investi gación y Desarrollo al Laboratorio de Microbiología de dicha compañía.

Se seleccionaron tres cremas sólidas y una que se considera loción-crema.

La elección de los conservadores está ba sada en la poca o nula acción que tienen con los in gredientes de la formulación, conclusión a la que se llegó previas investigaciones químicas del Depto. de Investigación y Desarrollo; en la facilidad para con seguirlos y en la correcta manipulación en las formu laciones. (1) (2)

Los conservadores usados son los siguien tes:

Metil éster del ácido p-hidroxibenzoico
Propil éster del ácido p-hidroxibenzoico
Sodio (etilmercurítico) salicilato

Las concentraciones empleadas de los conservadores se basan en los rangos recomendados en la

farmacopea de los estados unidos de América; el ligero exceso (0.01%) de los ésteres metílico y propílico del ácido p-hidroxibenzoico se debe a una simple medida de seguridad.

Se comprobó su efecto antimicrobiano frente a los siguientes microorganismos:

Bacillus cereus
Pseudomonas aeruginosa
Escherichia coli
Aspergillus niger
Penicillium sp.

Efectuándose los análisis: inicial, a una semana, a un mes y a dos meses.

Las condiciones de almacenamiento fueron a temperatura ambiente, para todas las preparaciones y con todos los microorganismos.

CAPITULO II

GENERALIDADES

Los preparados cosméticos, se emplean en el cuerpo humano con la finalidad de embellecer y/o favorecer la apariencia, así como también para corregir defectos de la piel; su composición puede variar desde unos compuestos simples, hasta una mezcla compleja, sean naturales o sintéticos. Se presentan en formas sólidas, pastas, geles y líquidos de todas - consistencias, pudiendo ser anhidros ó contener más del 99 % de agua.

Los problemas de contaminación microbiológica en los productos cosméticos han sido estudiados e investigado desde hace tiempo y se han encontrado en preparaciones que contienen cantidades substanciales de agua dentro de su formulación.

El desarrollo microbiológico dentro de estos productos puede dar como resultado variaciones destructivas en él, tales como: cambios de pH, olores y gases desagradables, cambios de viscosidad y color o bien romper la emulsión del cosmético.

La presencia de una masa visible de hongos y/o bacterias en la superficie del manufacturado, lo hace inadecuado para su uso y por consiguiente es un producto de mal aspecto y calidad.

Algunos productos no presentan el desarrollo microbiológico visible, pero representan un potencial de infección para el consumidor, éstos se encuen

tran clasificados como productos contaminados por la "Food and Drugs Articles" en su división de cosméticos de los E. U. A. y también por la Sociedad de Químicos Cosmetólogos de México, A. C.

La contaminación de preparaciones cosméticas puede ocurrir durante las diferentes fases de su manufactura y acondicionamiento; los microorganismos pueden introducirse al producto en:

1. Las materias primas.
2. El equipo.
3. Los materiales.
4. Un ambiente inadecuado para su fabricación.

La fabricación de preparados cosméticos en condiciones sanitarias disminuye considerablemente la posibilidad de contaminación, pero no en su totalidad, dado que sólo un número pequeño de células viables (microorganismos) nos puede dar como resultado un artículo contaminado; sugiriendo así la necesidad de proteger al producto con sustancias que impiden el desarrollo de esos microorganismos.

La selección de un conservador efectivo para preparados cosméticos, depende de muchos factores, además de ser un buen agente antimicrobiano. (2)

Considerando que estará en íntimo contacto con la piel, deberá reunir las siguientes características esenciales ó principales: (1) (2)

1. No tóxico.
2. No irritante y
3. No sensibilizador.

Otras características importantes desde el punto de vista de manufactura son la estabilidad y compatibilidad con los ingredientes de la formulación, no alterando su presentación (color, olor o emulsión).

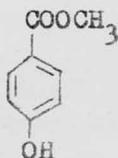
El valor de la actividad antimicrobiana de un conservador, sólo se puede conocer practicando una serie de pruebas en él y analizando el producto terminado. (1)

Los ésteres del ácido p-hidroxibenzoico son los más comunmente usados como conservadores en preparaciones cosméticas. (1)

Estos compuestos originalmente fueron introducidos en Europa por Sabalischka (1924). Los derivados de mayor interés son: metil, etil, propil y butil ésteres, son naturales, no volátiles, no reaccionan fácilmente con los demás componentes, no son tóxicos y son estables. Son efectivos a bajas concentraciones frente a una variedad de microorganismos en soluciones ácidas, neutras ó alcalinas. Su actividad antimicrobiana no presenta diferencias en rangos de pH 4 a 8. No se hidrolizan aún esterilizando los. (1)

METIL ESTER DEL ACIDO p-HIDROXIBENZOICO

Sinónimos: Nipagin; Metilparabeno; Metilparasept; Tegosept M.

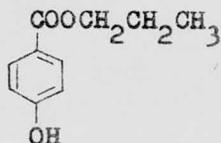


P.M. = 152.15

- Descripción. Cristales ó polvo cristalino blanco o incoloro.
- Solubilidad. 0.25 g. en 100 g. de agua (20°)
2.00 g. en 100 g. de agua (80°)
51 g. en 100 g. de etanol al 95%
59 g. en 100 g. de metanol
Fácilmente soluble en alcohol absoluto
- Forma de empleo. Suele disolverse en agua hirviente y posteriormente se incorpora al preparado, si la fórmula no contiene agua se puede disolver en alcohol, acetona, trietanolamina, glicerina, aceites perfumados o grasas derretidas.
- Usos. En preparados cosméticos que contienen grasas y/o aceites vegetales y animales susceptibles de descomponerse.
- Cantidad empleada. 0.05% a 0.25% (3) (4)

PROPIL ÉSTER DEL ACIDO p-HIDROXIBENZOICO

Sinónimos: Nipasol; Propilparabeno; Propilparasept



P.M. = 180.21

- Descripción. Cristales o polvo cristalino blanco o incoloro.
- Solubilidad. 0.05 g. en 100 g. de agua (20°)
0.3 g. en 100 g. de agua (80°)

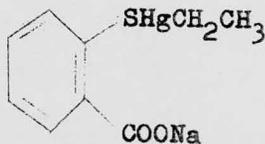
95 g. en 100 g. de etanol al 95%
124 g. en 100 g. de metanol.

Usos. En preparados cosméticos, junto con el metilparabeno como antifungistático y antimicrobiano.

Cantidad empleada. 0.05% a 0.25% (3) (4)

TIMEROSAL

Sinónimos. Sodio (o-carboxifenil)tio etil mercúrico; Sodio (etilmercuritio) salicilato; Merthiolate (Lilly).



P.M. = 404.81

Descripción. Polvo cristalino crema claro con olor característico.

Solubilidad. 1 g. en 1 ml. agua
1 g. en 12 ml. alcohol
insoluble en benceno y eter

Usos. Es un agente bacteriostático para muchas bacterias no-esporuladas, es también fungistático. Las bacterias esporuladas son particularmente resistentes al timerosal. Se usa mucho como antiséptico local.

Cantidad empleada. Tópicamente de 0.001% a 0.1% de la solución (1:30,000 a 1:1,000) o tinctura (1:1,000). (3) (4)

C A P I T U L O I I I

PARTE EXPERIMENTAL

a) METODO USADO

b) PRUEBAS Y ANALISIS

a) METODO USADO

1. Equipo y material.
2. Medios de cultivo y reactivos.
3. Cultivos patrón de prueba.
4. Procedimiento.
5. Interpretación y cálculos.

b) PRUEBAS Y ANALISIS

1. Fórmulas empleadas, puebas piloto.
2. Tratamiento de puebas piloto.
3. Aplicación y ejecución del método.
4. Lectura de resultados.

a) METODO USADO

1. Equipo y material.
 - 1.1. Autoclave.
 - 1.2. Espectrofotocolorímetro Spectro
nic 20.

- 1.3. Balanza granataria.
 - 1.4. Agitador para tubos de ensaye Vortex.
 - 1.5. Mechero Bunsen de flama grande
 - 1.6. Incubadora a 37°C.
 - 1.7. Armario c/puertas a temperatura ambiente.
 - 1.8. Tubos de ensaye estériles.
 - 1.9. Tarros c/tapa estériles.
 - 1.10. Vasos de precipitados estériles.
 - 1.11. Espátulas de acero inoxidable, estériles.
 - 1.12. Pipetas de 0.1, 5, 10 ml. estériles.
 - 1.13. Asa de platino.
 - 1.14. Gradilla para tubos de ensaye.
 - 1.15. Cajas Petri estériles.
 - 1.16. Cubre objetos.
 - 1.17. Porta objetos.
 - 1.18. Matraces erlenmeyer.
 - 1.19. Algodón.
 - 1.20. Papel glassín.
-
2. Medios de cultivo y reactivos.
 - 2.1. Caldo cerebro corazón Difco.
 - 2.2. Caldo dextrosa sabouraud Difco.
 - 2.3. Gelosa cerebro corazón Difco.
 - 2.4. Gelosa dextrosa sabouraud Difco.
 - 2.5. Gelosa pseudosel BBL.
 - 2.6. Gelosa E.M.B. Difco.
 - 2.7. Gelosa nutritiva Difco.

- 2.8. Caldo nutritivo Difco. c/tubo de fermentación.
- 2.9. Gelosa Seller's Difco.
- 2.10. Gelosa MacConckey BBL.
- 2.11. Solución de violeta cristal.
- 2.12. Solución de lugol.
- 2.13. Solución alcohol-acetona 1:1.
- 2.14. Solución de safranina.
- 2.15. Solución salina isotónica.
- 2.16. Solución de dextrosa al 5%.
- 2.17. Solución de eritrosina.
- 2.18. Alcohol metílico.
- 2.19. Alcohol etílico.
- 2.20. Alcohol absoluto.
- 2.21. Aceite de inmersión.
- 2.22. Xilol.
- 2.23. Resina o Bálsamo de Canadá.
- 2.24. Papeles reactivos Patothec CO.
- 2.25. Papeles reactivos Patothec I.

3. Cultivos patrón de prueba.

Bacillus cereus, Ps. aeruginosa y E. coli deberán ser cultivados en tubos con medio de cultivo inclinado de gelosa cerebro corazón; As. niger y Penicillium sp. en tubos con medio de cultivo inclinado gelosa dextrosa sabouraud. Las resiembras deberán hacerse mensualmente.

Preparación de la suspensión de esporas:
Dos días antes de efectuar la prueba sembrar B. cereus, Ps. aeruginosa y E. coli cada uno en un tubo conteniendo

de 10 ml. de caldo cerebro corazón e incubar de 18 a 24 horas a 37°C. Resembrar e incubar bajo las mismas condiciones. Preparar una suspensión en caldo - cerebro corazón de modo que tenga una transmisión de 45% (más o menos 1%) usando el espectrocolorímetro Spectronic 20 a 465 milimicrones.

Sembrar As. niger y Penicillium sp. en placas de gelosa dextrosa sabouraud e incubar a temperatura ambiente hasta que sea evidente el desarrollo de esporas (4 a 5 días). Preparar la suspensión de hongos adicionando suficiente cantidad de solución salina isotónica estéril para cubrir totalmente el cultivo, por medio del asa de platino, separar las esporas del medio y determinar la transmisión de dicha suspensión a 45% (más o menos 1%) en el espectro colorímetro a 465 milimicrones.

4. Procedimiento.

Preparación de la muestra. Pesar asépticamente 40 g. de la crema por analizar en un vaso de precipitados estéril, pipetear un ml. de la suspensión, inocular la crema y homogeneizarla perfectamente. Deberá hacerse una muestra testigo, la cual será de la misma formulación de la crema pero sin conservador, inoculandola en las mismas condiciones.

Técnica a seguir. Agregar 1 g. de la muestra preparada en un tubo de ensaye conteniendo 9 ml. de medio de cultivo adecuado y 1 ml. de neutralizador (el neutralizador deberá ser el apropiado para el tipo de conservador que se esté analizando) ver

tabla número I. Mezclar perfectamente con ayuda de un agitador Vortex, agregar una cantidad adicional de 9 ml. de medio de cultivo correspondiente, mezclar perfectamente.

Pipetear 1ml. de esta mezcla y verterla al primer tubo de una serie de diez, conteniendo 5 ml. de medio de cultivo adecuado; de este primer tubo pipetear 1 ml. y pasarlo al segundo, continuar la dilución seriada (1:5); el ml. del décimo tubo se desechará.

PRECAUCION: para cada una de las diluciones se usará una pipeta limpia y estéril.

Incubar todos los tubos a la temperatura adecuada, para hongos a temperatura ambiente y para bacterias a 37°C.

El tiempo también varía de acuerdo al microorganismo, si se trata de hongos será de 4 a 5 días y para bacterias de 48 horas.

Este análisis será el Inicial, debiendo se almacenar las cremas en recipientes estériles a temperatura ambiente para efectuar los análisis correspondientes a una Semana, un Mes y dos Meses.

5. Interpretación y cálculos.

Interpretación. La muestra conteniendo el conservador deberá tener un número menor de tubos mostrando crecimiento, en todos los períodos de prueba en comparación con la misma formulación (testigo) sin conservador. Obviamente entre más grande sea esta diferencia en las dos formulaciones, mejor será el conservador.

Una preparación bien conservada no debe rá mostrar crecimiento en más de dos a tres tubos, después de un mes de almacenamiento a temperatura ambiente.

Idealmente una muestra con conservador no deberá mostrar crecimiento en ningún tubo, pero es difícil que ésto suceda.

Cálculos. El siguiente cuadro es válido si se efectuó el análisis con 1 gramo de muestra i noculada, con una suspensión de microorganismos de 45% de transmitancia a 465 milimicrones.

CUADRO DE CALCULOS

TUBO CON CRE CIMIENTO	MICROORGANISMOS/ML.	
	MAYOR DE	MENOR DE
El 1o. pero no el 2o.	1	10
Hasta 2o. pero no 3o.	10	100
Hasta 3o. pero no 4o.	100	1,000
Hasta 4o. pero no 5o.	1,000	10,000
Hasta 5o. pero no 6o.	10,000	40,000
Hasta 6o. pero no 7o.	40,000	80,000
Hasta 7o. pero no 8o.	80,000	160,000
Hasta 8o. pero no 9o.	160,000	320,000
Hasta 9o. pero no 10o.	320,000	640,000
Hasta el 10o.	640,000	

T A B L A I

CONSERVADOR	NEUTRALIZADOR
Compuestos fenólicos	Tween 80
Sales cuaternarias de amonio	Solución de Letheen al 10%
Halógenos	Tiosulfato de sodio
Sales mercuriales y otros metales pesados o prods. oxidantes	Solución de Tioglicolato de sodio al 0.5%
Hexaclorofeno	Tween 80 al 20%
Formaldehido	Tween 80 al 20%
Alcohol etílico	Solución de Letheen al 10%
Parabenos	Solución de Letheen al 10%

Preparación de la solución de Lethen al 10%

Disolver 7 gramos de lecitina vegetal purificada y 50 ml. de tween 80 en un litro de agua, calentar hasta cerca del punto de ebullición y agitar. El líquido deberá ponerse claro. Esterilizar en autoclave a 1.0545 Kg/cm^2 o a 0.340 atmósferas (15 lb.) de presión durante 15 min.

Después de la esterilización enfriar ligeramente el matraz, agitando para que no se separen las dos capas del líquido.

Nota: Todos los neutralizadores que se usen, deberán ser previamente esterilizados.

Nota aclaratoria: Los neutralizadores son sustancias que inactivan a los conservadores, por esa razón son agregados en el momento de efectuar el análisis para tener así el conteo microbiano real, existente en la preparación cosmética.

b) PRUEBAS Y ANALISIS

1.- Fórmulas empleadas, pruebas piloto.

FORMULA I - A

Polietilenglicol 400 dioleato
Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra grado cosmético
Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.
Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Jalea Real
Rose Petal 29
TIMEROSAL N. F. 0.02%

FORMULA I - B

Polietilenglicol 400 dioleato
Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra grado cosmético
Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.
Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Jalea Real
Rose Petal 29
PROPILPARABENO 0.26%

FORMULA I - C

Polietilenglicol 400 dioleato
Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra grado cosmético

Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.
Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Jalea Real
Rose Petal 29
METILPARABENO 0.26%

FORMULA I - D

Polietilenglicol 400 dioleato
Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra grado cosmético
Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.
Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Jalea Real
Rose Petal 29
TIMEROSAL N.F. 0.02%
PROPILPARABENO 0.26%

FORMULA I - E

Polietilenglicol 400 dioleato
Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra grado cosmético
Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.
Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Jalea Real
Rose Petal 29
TIMEROSAL N.F. 0.02%
METILPARABENO 0.26%

FORMULA I - F

Polietilenglicol 400 dioleato

Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra grado cosmético
Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.
Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Jalea Real
Rose Petal 29
PROPILPARABENO 0.26%
METILPARABENO 0.26%

FORMULA I - G

Polietilenglicol 400 dioleato
Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra grado cosmético
Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.
Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Jalea Real
Rose Petal 29
TIMEROSAL N.F. 0.02%
PROPILPARABENO 0.26%
METILPARABENO 0.26%

FORMULA II - A

Cera blanca U.S.P.
Vaselina blanca U.S.P.
Lecitina
Lanolina anhidra grado cosmético
Protegin X
Aceite de hueso de durazno N.F.
Aceite de bálsamo de Perú
Chesmitine brown
Cologne Compoud 202
TIMEROSAL N.F. 0.02%

FORMULA II - B

Cera blanca U.S.P.
Vaselina blanca U.S.P.
Lecitina
Lanolina anhidra grado cosmético
Protegin X
Aceite de hueso de durazno N.F.
Aceite de bálsamo de Perú
Chesmitine brown
Cologne Compoud 202
PROPILPARABENO 0.26%

FORMULA II - C

Cera blanca U.S.P.
Vaselina blanca U.S.P.
Lecitina
Lanolina anhidra grado cosmético
Protegin X
Aceite de hueso de durazno N.F.
Aceite de bálsamo de Perú
Chesmitine brown
Cologne Compoud 202
METILPARABENO 0.26%

FORMULA II - D

Cera blanca U.S.P.
Vaselina blanca U.S.P.
Lecitina
Lanolina anhidra grado cosmético
Protegin X
Aceite de hueso de durazno N.F.
Aceite de bálsamo de Perú
Chesmitine brown
Cologne Compoud 202
TIMEROSAL N.F. 0.02%
PROPILPARABENO 0.26%

FORMULA II - E

Cera blanca U.S.P.
Vaselina blanca U.S.P.
Lecitina
Lanolina anhidra grado cosmético
Protegin X
Aceite de hueso de durazno N.F.
Aceite de bálsamo de Perú
Chesmitine brown
Cologne Compound 202
TIMEROSAL N.F. 0.02%
METILPARABENO 0.26%

FORMULA II - F

Cera blanca U.S.P.
Vaselina blanca U.S.P.
Lecitina
Lanolina anhidra grado cosmético
Protegin X
Aceite de hueso de durazno N.F.
Aceite de bálsamo de Perú
Chesmitine brown
Cologne Compound 202
PROPILPARABENO 0.26%
METILPARABENO 0.26%

FORMULA II - G

Cera blanca U.S.P.
Vaselina blanca U.S.P.
Lecitina
Lanolina anhidra grado cosmético
Protegin X
Aceite de hueso de durazno N.F.
Aceite de bálsamo de Perú
Chesmitine brown

TIEMEROSAL N.F.	0.02%
PROPILPARABENO	0.26%
METILPARABENO	0.26%

FORMULA III - A

Polietilenglicol 400 dioleato	
Arlacel 83	
Ceralan grado cosmético	
Isopropil linoleato	
Cera blanca U.S.P.	
Lanolina anhidra U.S.P. grado cosmético	
Isopropil estearato	
Tocoferoles tipo IV N.F.	
Mezcla Vit. A / Vit. D ₃	
Solución F.D.C. amarillo # 5	
Solución F.D.C. amarillo # 6	
Bouquet 7131	
TIMEROSAL N.F.	0.02%

FORMULA III - B

Polietilenglicol 400 dioleato	
Arlacel 83	
Ceralan grado cosmético	
Isopropil linoleato	
Cera blanca U.S.P.	
Lanolina anhidra U.S.P. grado cosmético	
Isopropil estearato	
Tocoferoles tipo IV N.F.	
Mezcla Vit. A + Vit. D ₃	
Solución F.D.C. amarillo # 5	
Solución F.D.C. amarillo # 6	
Bouquet 7131	
PROPILPARABENO	0.26%

FORMULA III - C

Polietilenglicol 400 dioleato	
-------------------------------	--

Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Isopropil linoleato
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra U.S.P. grado cosmético
Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.
Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Solución F.D.C. amarillo # 5
Solución F.D.C. amarillo # 6
Bouquet 7131
METILPARABENO 0.26%

FORMULA III - D

Polietylenglicol 400 dioleato
Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Isopropil linoleato
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra U.S.P. grado cosmético
Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.
Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Solución F.D.C. amarillo # 5
Solución F.D.C. amarillo # 6
Bouquet 7131
TIEMEROSAL N.F. 0.02%
PROPILPARABENO 0.26%

FORMULA III - E

Polietylenglicol 400 dioleato
Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Isopropil linoleato
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra U.S.P. grado cosmético
Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.

Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Solución F.D.C. amarillo # 5
Solución F.D.C. amarillo # 6
Bouquet 7131
TIMMEROSAL N.F. 0.02%
METILPARABENO 0.26%

FORMULA III - F

Polietilenglicol 400 dioleato
Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Isopropil linoleato
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra U.S.P. grado cosmético
Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.
Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Solución F.D.C. amarillo # 5
Solución F.D.C. amarillo # 6
Bouquet 7131
PROPILPARABENO 0.26%
METILPARABENO 0.26%

FORMULA III - G

Polietilenglicol 400 dioleato
Arlacel 83
Ceralan grado cosmético
Isopropil linoleato
Cera blanca U.S.P.
Lanolina anhidra U.S.P. grado cosmético
Isopropil estearato
Tocoferoles tipo IV N.F.
Mezcla Vit. A + Vit. D₃
Solución F.D.C. amarillo # 5
Solución F.D.C. amarillo # 6
Bouquet 7131
TIMMEROSAL N.F. 0.02%
PROPILPARABENO 0.26%

FORMULA IV - A

Acido esteárico U.S.P.
Cera blanca U.S.P.
Aceite mineral ligero U.S.P.
Trietanolamina T.G.A. 85%
Aceite esencial de leche de pepinos
TIEMROSAL N.F. 0.02%

FORMULA IV - B

Acido esteárico U.S.P.
Cera blanca U.S.P.
Aceite mineral ligero U.S.P.
Trietanolamina T.G.A. 85%
Aceite esencial de leche de pepinos
PROPILPARABENO 0.26%

FORMULA IV - C

Acido esteárico U.S.P.
Cera blanca U.S.P.
Aceite mineral ligero U.S.P.
Trietanolamina T.G.A. 85%
Aceite esencial de leche de pepinos
METILPARABENO 0.26%

FORMULA IV - D

Acido esteárico U.S.P.
Cera blanca U.S.P.
Aceite mineral ligero U.S.P.
Trietanolamina T.G.A. 85%
Aceite esencial de leche de pepinos
TIMEROSAL N.F. 0.02%
PROPILPARABENO 0.26%

FORMULA IV - E

Acido esteárico U.S.P.
Cera blanca U.S.P.

Aceite mineral ligero U.S.P.
Trietanolamina T.G.A. 85%
Aceite esencial de leche de pepinos
TIMEROSAL N.F. 0.02%
METILPARABENO 0.26%

FORMULA IV - F

Acido esteárico U.S.P.
Cera blanca U.S.P.
Aceite mineral ligero U.S.P.
Trietanolamina T.G.A. 85%
Aceite esencial de leche de pepinos
PROPILPARABENO 0.26%
METILPARABENO 0.26%

FORMULA IV - G

Acido esteárico U.S.P.
Cera blanca U.S.P.
Aceite mineral ligero U.S.P.
Trietanolamina T.G.A. 85%
Aceite esencial de leche de pepinos
TIMEROSAL N.F. 0.02%
PROPILPARABENO 0.26%
METILPARABENO 0.26%

Nota: De cada una de estas formulaciones, se manufac
turó otra sin ningun conservador, sirviendo éstas
como pruebas testigo.

2. Tratamiento de pruebas piloto.

Dependiendo de la formulación y según
la técnica de manufactura para cada preparación cos
mética, se adicionan los conservadores a la hora -
que convenga.

La manufactura de estas preparaciones cosméticas se efectuó en el equipo adecuado para ello, mezclándose perfectamente, almacenándose en recipientes adecuados, estériles y bien identificados.

3. Aplicación y ejecución del método.

Programación del plan de trabajo (ver tabla II en la página 29 a la 37).

De cada una de las formulaciones, se pesan asépticamente 40 g. en un vaso de precipitados estéril, usando espátulas y demás equipo también esterilizados, identificándolos correctamente.

Se inoculan con 1 ml. de la suspensión de microorganismos, la cual se preparó en la misma forma como se detalla en la página número 10 "Cultivos patrón de prueba", mezclando perfectamente para su correcta homogeneización.

Se prepara una serie de tubos conteniendo 9 ml. de medio de cultivo adecuado al microorganismo que se vaya a inocular, adicionar un gramo de la muestra inoculada, agitando con equipo Vortex para tubos, se agrega 1 ml. del neutralizador (en caso de usar dos, se agrega 0.5 ml. de cada uno), agitar nuevamente, agregar 9 ml. más del medio de cultivo de que se trate y posteriormente agitar.

Pipetear un ml. de la mezcla anterior y verterla al tubo número 1 de una serie de 10, conteniendo 5 ml. de medio de cultivo igual al que está inoculado, agitar; pipetear 1 ml. del primer tubo a adicionarlo al segundo, agitar; continuar la dilución seriada (1:5); el ml. del décimo tubo se desecha.

Una vez efectuadas las diluciones, se incuban todos los tubos, según si se trata de hongos a temperatura ambiente de 4 a 5 días, si son bacterias a 37°C. por 48 horas. (ver fig. número 1).

Cada vez que se efectúe una prueba se deberá analizar la muestra testigo.

Este análisis será el inicial, a la semana, al mes y a los dos meses se analizará nuevamente; sólo que en estas ocasiones ya no se pesan los 40 g. de la preparación, sino que se parte de 1 g., adicionándolo al tubo conteniendo 9 ml. de caldo y se sigue la misma técnica.

T A B L A II
PROGRAMA DEL PLAN DE TRABAJO

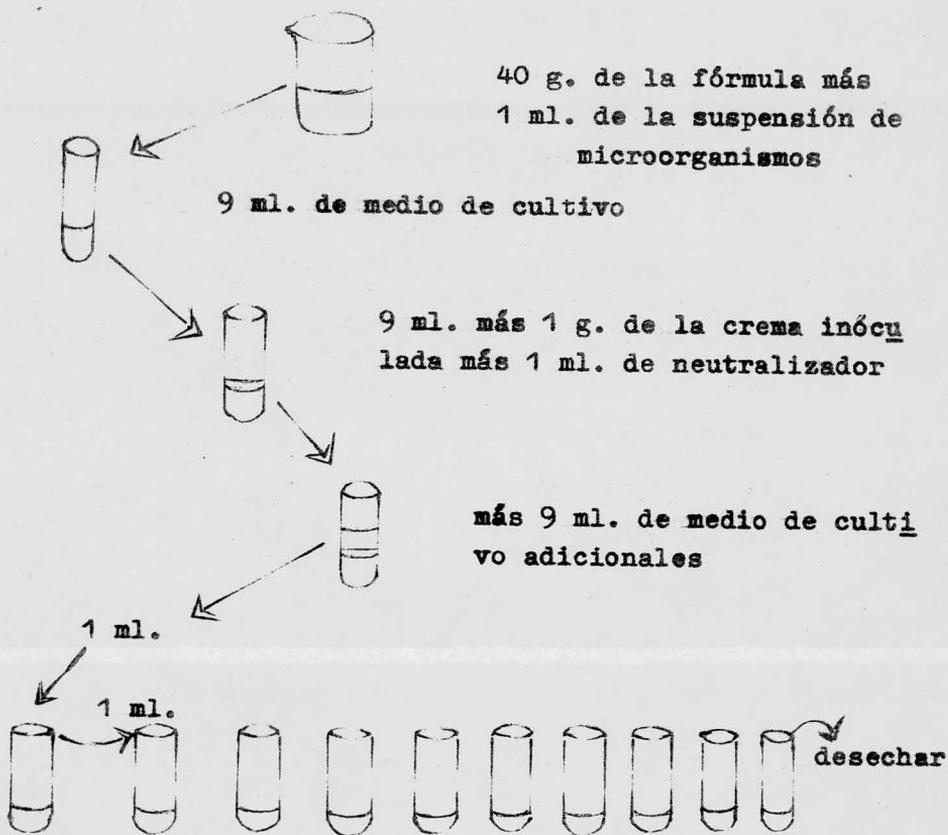
Pseudomona aeruginosa	Bacillus cereus	Escherichia Coli	Aspergillus niger	Penicillium S.P.	A G O S T O					Análisis	
					Lunes	Martes	Mierc.	Jueves	Viernes		
					10	11	12	13	14		
x	x	x			I-A					Inicial	
x	x	x				I-B				Inicial	
x	x	x					I-C			Inicial	
			x	x			I-A			Inicial	
			x	x				I-B		Inicial	
									I-C	Inicial	
						17	18	19	20	21	
x	x	x				I-D					Inicial
x	x	x				I-A					1a. semana
x	x	x					I-E	I-F			Inicial
x	x	x					I-B	I-C			1a. semana
			x	x				I-A			1a. semana
			x	x				I-D	I-E	I-F	Inicial
			x	x					I-B		1a. semana
			x	x						I-C	1a. semana
						24	25	26	27	28	
x	x	x				I-G					Inicial
x	x	x					II-A				Inicial
			x	x				I-G			Inicial
x	x	x						II-B			Inicial
			x	x					II-A		Inicial
			x	x						II-B	Inicial
			x	x				I-D	I-E	I-F	1a. semana
x	x	x				I-D	I-E	I-F			1a. semana
						31					
x	x	x				I-G					1a. semana
x	x	x				II-C					Inicial

T A B L A II

-- 33 --

Pseudomona aeruginosa	Bacillus cereus	Escherichia Coli	Aspergillus niger	Penicillium s.p.	O C T U B R E					Análisis
					Lunes	Martes	Mierc.	Jueves	Viernes	
					12	13	14	15	16	
x	x	x				III-B			Mes	
			x	x				III-A	Mes	
			x	x				III-B	Mes	
x	x	x				IV-B			1a. semana	
x	x	x			IV	IV-C	IV-D		1a. semana	
			x	x				III-G	1a. semana	
			x	x				I-D	2o. mes	
					19	20	21	22	23	
x	x	x			IV-G					
			x	x			IV-D	IV-E	IV-F	
x	x	x			I-D				2o. mes	
x	x	x			I-E				2o. mes	
x	x	x			I-F				2o. mes	
			x	x			I-E		2o. mes	
			x	x			I-F	I-G	2o. mes	
x	x	x					III-C		Mes	
x	x	x					III-D		Mes	
			x	x				III-C	Mes	
x	x	x				IV-E	IV-F		1a. semana	
			x	x				IV-B	IV-C	
					26	27	28	29	30	
			x	x	IV-G					
x	x	x			I-G				Inicial	
x	x	x			II-A				Mes	
x	x	x			II-B				2o. mes	
			x	x			II-A		2o. mes	
			x	x			II-B		2o. mes	
			x	x			II-C		2o. mes	
			x	x			III-D		Mes	

FIGURA No. 1



Notas:

1. Los 39 g. de la crema inoculada se almacenan en condiciones adecuadas.
2. El tubo que contiene 18 ml. del medio de cultivo, 1 ml. de neutralizador y 1 g. de crema se desecha.
3. La serie de 10 tubos se incuba a la temperatura adecuada (bacterias, 48 horas a 37°C y hongos 4-5 días a temperatura ambiente).

4. Lectura de resultados.

Al transcurrir el período de incubación, se procede a la lectura de resultados, la cual se efectúa de acuerdo con los siguientes pasos:

A. Observación directa: Se agitan los tubos para observar mejor el crecimiento microbiano. En el caso de hongos se puede observar una nata sobre la superficie ó simplemente unas motitas dentro del medio de cultivo. Si se trata de bacterias se observa como precipitado en el medio.

B. Resiembras: Para el aislamiento de colonias, se procede a efectuar simbras en medio de cultivo sólidos, estudiando así el tipo de colonias procedentes del ó de los tubos contaminados; una vez aislada la colonia, se procede a resembrarla en medios específicos para cada microorganismo utilizado; comprobando así, si el microorganismo desarrollado en el medio es el mismo que se inculó.

C. Comprobación con papeles reactivo: Una forma más de verificación es con el uso de los papeles reactivo Patothec, los cuales constan de una zona reactiva específica para cada microorganismo.

D. Observación microscópica: Se efectúan tinciones, tanto de hongos como bacterias para tener la confianza de la morfología del microorganismo. La técnica para la tinción de bacterias es la de Gram, para hongos se usó la técnica descrita en la tabla III.

T A B L A I I I

TINCIÓN DE HONGOS

Material y reactivos descritos en las páginas 9 y 10.

Procedimiento: En un porta objetos se coloca una capa delgada de medio gelosa SD, dejándola secar. Se inocular con el hongo deseado, haciendo tres piquetes, adecuadamente repartidos; incubar de 4 a 5 días. Se fija con alcohol metílico, a que seque. Cubrir con eritrosina al 1% durante 7-10 min., no más de 10. Lavar con alcohol al 96%, quitando el exceso de colorante, dejándolo por lo menos 2 min.; colocar alcohol absoluto por 2 min., cubrirlo con xilol por 30 a 40 min., tirar el exceso, colocar resina o bálsamo de Canadá y colocar un cubre objetos adecuadamente, quitar el exceso de las orillas. Observar al microscopio. (6)

CAPITULO IV

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este trabajo se tabulan a continuación; de acuerdo con el cuadro de cálculos (pág.14); usando la siguiente clave:

<u>Tabla</u>	<u>Fórmula</u>	<u>Conservador</u>
IV	I-A	Timerosal
V	I-B	Propilparabeno
VI	I-C	Metilparabeno
VII	I-D	Timerosal y Propil.
VIII	I-E	Timerosal y Metil.
IX	I-F	Propil. y Metil.
X	I-G	Timerosal, Propil. y Metil.
XI	II-A	Timerosal
XII	II-B	Propilparabeno
XIII	II-C	Metilparabeno
XIV	II-D	Timerosal y Propil.
XV	II-E	Timerosal y Metil.
XVI	II-F	Propil. y Metil.
XVII	II-G	Timerosal, Propil. y Metil.
XVIII	III-A	Timerosal
XIX	III-B	Propilparabeno
XX	III-C	Metilparabeno
XXI	III-D	Timerosal y Propil.

<u>Tabla</u>	<u>Fórmula</u>	<u>Conservador</u>
XXII	III-E	Timerosal y Metil.
XXIII	III-F	Propil. y Metil.
XXIV	III-G	Timerosal, Propil y Metil.
XXV	IV-A	Timerosal
XXVI	IV-B	Propilparabeno
XXVII	IV-C	Metilparabeno
XXVIII	IV-D	Timerosal y Propil.
XXIX	IV-E	Timerosal y Metil.
XXX	IV-F	Propil. y Metil.
XXXI	IV-G	Timerosal, Propil. y Metil.

T A B L A IV

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	I-A	Control	I-A	Control	I-A	Control	I-A
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 3	tubo # 2
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 4
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 4	tubo # 5
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 4	tubo # 4
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 4

T A B L A V

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	I-B	Control	I-B	Control	I-B	Control	I-B
B A C T E R I A S <u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 4	tubo # 2
Microorganismos/ ml.								
	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
<u>B. cereus</u>	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 7	tubo # 4
Microorganismos/ ml.								
<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 4	tubo # 2
Microorganismos/ ml.								
H O N G O S <u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 4
Microorganismos/ ml.								
<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 4
Microorganismos/ ml.								

T A B L A VI

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes		
	Control	I-C	Control	I-C	Control	I-C	Control	I-C	
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 3
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	
	Microorganismos/ ml.	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 5
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 5
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 8	tubo # 4
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 5

T A B L A VII

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	I-D	Control	I-D	Control	I-D	Control	I-D
B A C T E R I A S <u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml. # 7	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 4	tubo # 8	tubo # 3
<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml. # 8	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 4
<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml. # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 3	tubo # 6	tubo # 3
H O N G O S <u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml. # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 7	tubo # 4
<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml. # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 4

T A B L A VIII

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	I-E	Control	I-E	Control	I-E	Control	I-E
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 7
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 7
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 7
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 4	tubo # 7
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 7	tubo # 4	tubo # 6

T A B L A IX

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes		
	Control	I-F	Control	I-F	Control	I-F	Control	I-F	
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 7	tubo # 3	tubo # 7	tubo # 1
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 4	tubo # 7	tubo # 2	tubo # 6	tubo # 1
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 4	tubo # 6	tubo # 2	tubo # 5	tubo # --
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 6	tubo # 3	tubo # 6	tubo # 1
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 6	tubo # 3	tubo # 6	tubo # 1

T A B L A X

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	I-G	Control	I-G	Control	I-G	Control	I-G
<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	--
	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 7	tubo # 1	tubo # 7	--
<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 4	tubo # 7	tubo # 1	tubo # 7	---
<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 10	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 2	tubo # 7	---	tubo # 7	---
<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 7	tubo # 2	tubo # 6	---	tubo # 6	---
<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 7	tubo # 3	tubo # 7	tubo # 1	tubo # 6	---	tubo # 5	---

T A B L A XI

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	II-A	Control	II-A	Control	II-A	Control	II-A
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 7	tubo # 8	tubo #7	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 4	tubo # 3 # 1
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 5 # 4
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 6 # 3
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 4	tubo # 2 # 1
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 4 # 3

T A B L A XII

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes		
	Control	II-B	Control	II-B	Control	II-B	Control	II-B	
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 5	tubo # 3
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 5	tubo # 4
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 4	tubo # 5	tubo # 2
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 6	tubo # 4
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 4

T A B L A XIII

Microorganismo		Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
		Control	II-C	Control	II-C	Control	II-C	Control	II-C
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 4	tubo # 5	tubo # 3
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 5
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 4
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 4	tubo # 5	tubo # 3
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 5	tubo # 3

T A B L A XIV

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	II-D	Control	II-D	Control	II-D	Control	II-D
B A C T E R I A S <u>Ps. aeruginosa</u> Microorganismos/ ml.	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 9	tubo # 5	tubo # 9	tubo # 5	tubo # 7	tubo # 4	tubo # 6	tubo # 2
<u>B. cereus</u> Microorganismos/ ml.	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 5	tubo # 3
<u>E. Coli</u> Microorganismos/ ml.	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 6	tubo # 2
H O N G O S <u>Aspergillus Niger</u> Microorganismos/ ml.	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 4
<u>Penicillium sp</u> Microorganismos/ ml.	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 5

T A B L A XV

Microorganismo		Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
		Control	II-E	Control	II-E	Control	II-E	Control	II-E
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 7	tubo # 4
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 4
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	1 tubo # 7	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 5
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 5
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 7	tubo # 5

T A B L A XVI

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes		
	Control	II-F	Control	II-F	Control	II-F	Control	II-F	
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 6	tubo # 2
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 4
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 5	tubo # 8	---
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 9	tubo # 5
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 8	tubo # 5

T A B L A XVII

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes		
	Control	II-G	Control	II-G	Control	II-G	Control	II-G	
B A C T E R I A S H O N G O S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 5	tubo # 8	tubo # 1
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 9	tubo # 1	tubo # 8	---
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 3	tubo # 8	---
	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 5	tubo # 8	---	tubo # 8	---
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 5	tubo # 8	tubo # 2	tubo # 7	---

T A B L A XVIII

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	III-A	Control	III-A	Control	III-A	Control	III-A
<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 3
<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 9	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 7	tubo # 2
<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 10	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 4
<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 8	tubo # 4
<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 10	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 5	tubo # 9	tubo # 4

T A B L A XIX

Microorganismo		Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
		Control	III-B	Control	III-B	Control	III-B	Control	III-B
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 9	tubo # 6
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 3
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 10	tubo # 10	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 5
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 4
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 3

T A B L A XX

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes		
	Control	III-C	Control	III-C	Control	III-C	Control	III-C	
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 5
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 4
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 8	tubo # 4
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 10	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 5
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 6

T A B L A XXI

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes		
	Control	III-D	Control	III-D	Control	III-D	Control	III-D	
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 8	tubo # 4
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 3
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 3	tubo # 8	tubo # 1
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 7	---	tubo # 9	---
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 5	tubo # 8	---	tubo # 9	---

T A B L A XXII

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	III-E	Control	III-E	Control	III-E	Control	III-E
<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	tubo # 9	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 8	---
<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	---	tubo # 9	---
<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 10	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 8	---	tubo # 8	---
<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	tubo # 10	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 5	tubo # 8	---
<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 2

T A B L A XXIII

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	III-F	Control	III-F	Control	III-F	Control	III-F
B A C T E R I A S <u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 9	tubo # 3	tubo # 9	---
Microorganismos/ ml.								
<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 8	tubo # 2	tubo # 8	---
Microorganismos/ ml.								
<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	---	tubo # 9	---
Microorganismos/ ml.								
<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 10	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 2
Microorganismos/ ml.								
<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 5
Microorganismos/ ml.								

T A B L A XXIV

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	III-G	Control	III-G	Control	III-G	Control	III-G
B A C T E R I A S <u>Ps. aeruginosa</u> Microorganismos/ ml.	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	---	tubo # 6	---
<u>B. cereus</u> Microorganismos/ ml.	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 10	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 9	---	tubo # 8	---
<u>E. Coli</u> Microorganismos/ ml.	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 5	tubo # 8	---	tubo # 7	---
H O N G O S <u>Aspergillus Niger</u> Microorganismos/ ml.	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	tubo # 10	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 8	tubo # 3
<u>Penicillium sp</u> Microorganismos/ ml.	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 3	tubo # 8	---

T A B L A XXV

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	IV-A	Control	IV-A	Control	IV-A	Control	IV-A
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 3	tubo # 9	tubo # 2	tubo # 8
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 7
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 3	tubo # 7	tubo # 2	tubo # 6
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 10	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 8	tubo # 2	tubo # 8
	<u>Penicillium sp.</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	----	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 10	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 7	---	tubo # 8

- 54 -

T A B L A XXVI

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes		
	Control	IV-B	Control	IV-B	Control	IV-B	Control	IV-B	
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 8	---	tubo # 5	---
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 10	tubo # 8	tubo # 3	tubo # 8	---	tubo # 2	---
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	---	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 3	---	---	---
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 6	tubo # 1
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 8	tubo # 3	tubo # 7	tubo # 2

T A B L A XXVII

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	IV-C	Control	IV-C	Control	IV-C	Control	IV-C
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 3	tubo # 2
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 3	tubo # 2	tubo # 1
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 2	---	---
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 8	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 6	---	tubo # 1
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10	tubo # 7	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 6	---

T A B L A XXVIII

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes		
	Control	IV-D	Control	IV-D	Control	IV-D	Control	IV-D	
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 3	tubo # 2	tubo # 2	tubo # 1
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	-----	----	----
	Microorganismos/ ml.	tubo # 10# 6	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 3	tubo # 2	-----	----	----
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	---	---	---	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 3	tubo ## 2	----- #	-----	-----	-----
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 6	---	tubo # 2	---
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 5	-----	tubo # 1	---

T A B L A XXIX

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	IV-E	Control	IV-E	Control	IV-E	Control	IV-E
B A C T E R I A S <u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	---	----
	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 2	tubo # 3	---	---	---
<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 10	tubo # 9	tubo # 5	tubo # 3	tubo # 2	---	tubo # 2	---
<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---	hasta	---
	tubo #9	tubo # 7	tubo # 6	---	tubo # 3	---	tubo # 2	---
H O N G O S <u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 4	tubo # 5	---	tubo # 3	---
<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 10	tubo # 8	tubo # 7	tubo # 5	tubo # 6	---	tubo # 2	---

T A B L A XXX

Microorganismo	Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
	Control	IV-F	Control	IV-F	Control	IV-F	Control	IV-F
B A C T E R I A S <u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 3	tubo # 6	---	tubo # 2	---
<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo #9	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 2	tubo # 2	---	tubo # 1	---
<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 9	tubo # 8	tubo # 6	tubo # 4	tubo # 3	---	tubo # 1	---
H O N G O S <u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	tubo # 9	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 7	tubo # 5	---	tubo # 2	---
<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---
	tubo # 9	tubo # 7	tubo # 7	tubo # 6	tubo # 4	tubo # 1	tubo # 1	---

T A B L A XXXI

Microorganismo		Inicial		Primera Semana		Primer Mes		Segundo Mes	
		Control	IV-G	Control	IV-G	Control	IV-G	Control	IV-G
B A C T E R I A S	<u>Ps. aeruginosa</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 7	tubo # 3	tubo # 6	tubo # 5	tubo # 2	---	tubo # 1	---
	<u>B. cereus</u>	hasta	hasta	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 5	tubo # 1	tubo # 1	---	tubo # 1	---
	<u>E. Coli</u>	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 9	tubo # 6	tubo # 6	---	tubo # 2	---	tubo # 1	---
H O N G O S	<u>Aspergillus Niger</u>	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 7	tubo # 3	tubo # 8	---	tubo # 5	---	tubo # 1	---
	<u>Penicillium sp</u>	hasta	hasta	hasta	---	hasta	---	hasta	---
	Microorganismos/ ml.	tubo # 8	tubo # 5	tubo # 8	---	tubo # 2	---	tubo # 1	---

RESUMEN DE RESULTADOS

TIMEROSAL				
	I	II	III	IV
	1-2-3-4	1-2-3-4	1-2-3-4	1-2-3-4
<u>Ps. aeruginosa</u>	8 6 3 2	8 7 4 1	9 7 6 3	9 3 2 0
<u>B. cereus</u>	9 7 5 4	9 7 6 4	10 8 5 2	9 7 5 2
<u>E. coli</u>	8 6 4 2	10 8 6 3	10 9 7 4	8 3 2 1
<u>As. niger</u>	9 6 4 4	9 7 4 1	9 9 5 4	10 5 2 0
<u>Penicillium</u>	8 6 5 4	9 7 5 3	9 7 5 4	10 7 0 0

PROPILPARABENO				
	I	II	III	IV
	1-2-3-4	1-2-3-4	1-2-3-4	1-2-3-4
<u>Ps. aeruginosa</u>	8 6 5 2	9 7 5 3	8 7 6 6	9 6 0 0
<u>B. cereus</u>	7 6 5 4	9 7 5 4	9 7 6 3	10 6 0 0
<u>E. coli</u>	8 6 5 2	8 6 4 2	10 7 8 5	9 5 0 0
<u>As. niger</u>	8 7 6 4	8 7 5 4	10 9 7 4	9 6 5 1
<u>Penicillium</u>	9 7 6 4	9 7 6 4	10 8 8 3	9 7 3 2

METILPARABENO				
	I	II	III	IV
	1-2-3-4	1-2-3-4	1-2-3-4	1-2-3-4
<u>Ps. aeruginosa</u>	10 8 6 3	7 6 4 3	8 8 7 5	9 7 3 0
<u>B. cereus</u>	9 9 7 5	8 7 6 5	9 8 6 4	9 6 2 0
<u>E. coli</u>	9 7 6 5	9 7 6 4	8 8 5 4	9 5 0 0
<u>As. niger</u>	9 8 5 4	8 6 4 3	10 9 7 5	8 6 0 0
<u>Penicillium</u>	8 7 6 5	8 7 5 3	9 9 8 6	7 6 6 0

TIMEROSAL Y PROFIL				
I 1-2-3-4	II 1-2-3-4	III 1-2-3-4	IV 1-2-3-4	
<u>Ps. aeruginosa</u>	8 6 4 3	5 5 4 2	9 7 5 4	7 5 2 1
<u>B. cereus</u>	8 7 6 4	7 5 5 3	9 7 6 3	6 3 0 0
<u>E. coli</u>	8 6 3 3	9 7 5 2	9 8 3 1	6 2 0 0
<u>As. niger</u>	9 7 5 4	9 7 6 4	10 7 0 0	7 5 0 0
<u>Penicillium</u>	8 7 6 4	9 7 7 5	9 5 0 0	8 5 0 0

TIMEROSAL Y METIL				
I 1-2-3-4	II 1-2-3-4	III 1-2-3-4	IV 1-2-3-4	
<u>Ps. aeruginosa</u>	7 6 5 3	7 6 5 4	10 9 6 0	8 2 0 0
<u>B. cereus</u>	9 7 6 4	8 7 6 4	9 8 0 0	9 3 0 0
<u>E. coli</u>	8 6 5 3	9 7 6 5	7 8 0 0	7 0 0 0
<u>As. niger</u>	8 6 4 3	8 9 7 5	10 9 5 0	8 4 0 0
<u>Penicillium</u>	8 5 4 3	9 7 5 5	8 8 6 2	8 5 0 0

PROPIL Y METIL				
I 1-2-3-4	II 1-2-3-4	III 1-2-3-4	IV 1-2-3-4	
<u>Ps. aeruginosa</u>	7 5 3 1	7 6 5 2	9 5 3 0	7 3 0 0
<u>B. cereus</u>	6 4 2 1	9 7 6 4	9 6 2 0	6 2 0 0
<u>E. coli</u>	7 4 2 0	9 7 5 0	8 7 0 0	8 4 0 0
<u>As. niger</u>	8 5 3 1	9 7 6 5	10 7 7 2	9 7 0 0
<u>Penicillium</u>	7 5 3 1	9 6 5 5	9 9 8 5	7 6 1 0

TIMEROSAL, PROPIL Y METIL				
I	II	III	IV	
1-2-3-4	1-2-3-4	1-2-3-4	1-2-3-4	
<u>Ps. aeruginosa</u>	7 5 1 0	8 7 5 1	9 7 0 0	5 3 0 0
<u>B. cereus</u>	7 4 1 0	9 6 1 0	8 6 0 0	5 1 0 0
<u>E. coli</u>	6 2 0 0	8 7 3 0	9 5 0 0	6 0 0 0
<u>As. niger</u>	5 2 0 0	9 5 0 0	10 9 5 3	3 0 0 0
<u>Penicillium</u>	3 1 0 0	7 5 2 0	9 7 3 0	5 0 0 0

C A P I T U L O V

CONCLUSIONES

De acuerdo al resumen de resultados (pag. 71,72 y 73) se concluye lo siguiente:

- 1o. El tipo de formulación afecta la acción antimicrobiana de los conservadores, y
- 2o. La mejor conservación de los preparados cosméticos, usados en este trabajo, es una mezcla de los tres conservadores, Nipagin, Nipasol y Timerosal.

La literatura revisada sobre contaminaciones microbiológicas en preparados cosméticos, nos da unos límites de contaminación como sigue:

<u>B. cereus</u>	Máx. 100 col/g
<u>Pa. aeruginosa</u>	Ninguna
<u>E. coli</u>	Ninguna
<u>As. niger</u>	Ninguna
<u>Penicillium sp.</u>	Ninguna

En base a las comparaciones hechas, se concluye que: en la actualidad no hay un método oficial para evaluar la acción antimicrobiana de los conservadores más usados en productos cosméticos; por esto el método propuesto, viene a ser de gran ayuda para la industria cosmética, ya que tiene las siguientes ventajas:

1. Tiempo. En esta técnica se comprueba la acción de uno, dos y hasta tres conservadores al

mismo tiempo, ahorrándose así tiempo en análisis y obtención de resultados.

2. Muestra. La cantidad de muestra usada en la técnica es mínima, ya que después de haberse elaborado un lote piloto (más o menos 40 g.), se al macena y en cada ocasión en que se efectúa el análi sis, se toma tan sólo 1 g., comparando y comprobando así la acción de los conservadores.

3. Facilidad del método. En este renglón son varias las ventajas que tiene, empezando con las suspensiones de microorganismos, ya que son las que comunmente contaminan los productos cosméticos, éstas se aíslan y se resimbran con frecuencia para aumentar su actividad; la preparación de las suspensiones a ser inoculadas es relativamente fácil, ya que con el sólo uso de un espectrofotómetro se llega a la concentración de microorganismos deseada y correcta, sin nece sidad de efectuar cuentas totales en placa; la repr ductibilidad del método es extraordinariamente senci lla, basta con poner sumo cuidado en la elaboración del lote piloto, elaborar un calendario adecuado a los análisis y llevar un registro de los resultados.

4. Costo. A este respecto, se puede decir que el método no altera el presupuesto de ningún laboratorio, debido a que se lleva a cabo con materi al y equipo que comunmente se encuentra en cualquier laboratorio de microbiología, no requiere de artícu los especiales ni de tiempo extra de análisis.

Existe en la farmacopea un método para comprobar la acción de los conservadores en solucio

nes oftálmicas y parenterales, que con algunos cambios se podría aplicar a los cosméticos, pero la de ventaja primordial es que en este método están en contacto los microorganismos con el conservador sólo 28 días. Algunos cosméticos tienen un tiempo de vida media de aproximadamente 12 meses y otros hasta de 24 meses, por lo que es necesario que los con servadores usados en los productos cosméticos estén en contacto con los microorganismos un tiempo más prolongado.

BIBLIOGRAFIA

1. Gaulden H.D., et al.- Cosmetics Science and Technology.- Edward Sagarin Ed.- 1957.
2. Lawrence C.A., et al.- Disinfection, Sterilization and Preservation.- Lea & Febiger.- Philadelphia, 1968.
3. Merck Index.- Eighth Edition.- Merck & Co.- Rahway N.J. U.S.A. 1968.
4. Pharmacopeia of the United States of America.- Eighteenth Revision.- Easton, Pa.- official from September 1, 1970.
5. Remington's.- Pharmaceutical Sciences.- Thirteenth Edition.- Meck Publishing Co.- Easton Pennsylvania 1965.
6. Salinas R.- Aislamiento de levaduras del género Candida en pacientes con procesos bronconeumónicos.- Tesis.- México 1973.
7. United States Dispensatory and Physicians' Pharmacology.- 26th. Edition Philadelphia & Toronto Lippincott Co.- 1960.