



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**“FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN”**

---

---

“ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE JABÓN  
LÍQUIDO Y SHAMPOO A BASE DE PROPÓLEO PARA USO MEDICINAL.”

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**  
**LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNOSTICA Y**  
**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA:**

HEIDI CLEOFAS GARDUÑO  
JOSÉ ALONSO CLEOFAS GARDUÑO

**ASESOR:** DR. TONATIUH ALEJANDRO CRUZ SÁNCHEZ  
**COASESORES:** Q.F.B. ADRIANA GIL GARCÍA  
DAR. JUAN JOSÉ DÍAZ ESQUIVEL



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN  
**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

**Elaboración y evaluación microbiológica de jabón líquido y shampoo a base de propóleo para uso medicinal**

Que presenta la pasante: **Heidi Cleofas Garduño**  
Con número de cuenta: **307090801** para obtener el Título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 26 de septiembre de 2014.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>
<b>PRESIDENTE</b>	Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez	
<b>VOCAL</b>	DESS. Rodolfo Cruz Rodríguez	
<b>SECRETARIO</b>	Dra. Alma Lucila Nuñez del Arco	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Dr. José Juan Escobar Chávez	
<b>2do. SUPLENTE</b>	QFB. Leticia Cubillo Carrillo	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HMI/iac



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

**Elaboración y evaluación microbiológica de jabón líquido y shampoo a base de propóleo para uso medicinal**

Que presenta el pasante: José Alonso Cleofas Garduño  
Con número de cuenta: 304285901 para obtener el Título de: Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 26 de septiembre de 2014.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez	
<b>VOCAL</b>	DESS. Rodolfo Cruz Rodríguez	
<b>SECRETARIO</b>	Dra. Alma Lucila Nuñez del Arco	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Dr. José Juan Escobar Chávez	
<b>2do. SUPLENTE</b>	QFB. Leticia Cubillo Carrillo	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HMI/iac



Todo el material de este proyecto fue financiado por PAPIIT (Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica).

Esta investigación fue realizada gracias la beca proporcionada por el Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT (Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica) del proyecto IT223811: Perspectivas del uso del propóleo en la salud animal.

Fue realizado en las instalaciones del laboratorio de Microbiología (Laboratorio 6) en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la FESC campo 4, al igual que en el LEM de Farmacia Campo 1.

## Agradecimientos

### **A Dios por sobre todas las cosas, porque nos permitió lograr nuestras metas. Por ser nuestra roca y nuestro castillo**

“El corazón del entendido adquiere sabiduría; Y el oído de los sabios busca la ciencia” Pr.18:15

A nuestro papá por apoyarnos durante tanto tiempo y tenernos paciencia en cada paso de nuestra vida.

A nuestra madre por estar con nosotros, alentarnos y presionarnos para que no nos rindiéramos nunca.

A los miembros del jurado (Profesores: Tonatiuh Cruz, Alma Núñez, Rodolfo Cruz, Leticia Cubillo, José Juan Escobar) por su paciencia y apoyo hasta el fin en la elaboración de la tesis.

A mis coasesores (profesores: Adriana Gil y Juan José Díaz) por aconsejarnos y ayudarnos a lo largo de este proceso.

Al señor Baldomero, laboratorista del LEM de Farmacia que nos apoyo y consejo en todo el proceso.

#### Agradecimientos (Heidi):

A mis Profesores en general que me instruyeron y permitieron por medio de sus enseñanzas que terminará esta carrera.

A mis amigas “Las fodongas”: Ali Berenice, Irais, Karina, Adriana y Laura Denisse que con su apoyo y consejos me ayudaron a ser mejor persona.

A mis amigos de la carrera: Marco Antonio, Aislinn, Alberto, Fabiola, Cynthia, Jessica, Diana y Michael Itzel por soportarme en los tiempos más difíciles de la licenciatura y hacer mi vida más divertida.

#### Agradecimientos (Alonso):

A mis amigos “Los chacales”: por estar conmigo en las buenas y en las malas.

Al Mao y Toño por su depa que fue mi segunda casa, al incómodo y Rene por ser mis compañeros de chacaleo.

A San por ser la organizadora de todo, a Sara por siempre criticarme constructivamente obvio, al trasgui (Fer) por seguirme a mis grupos aunque resultaran tan horribles y a los demás por motivos de espacio no es personalizado pero que fueron una parte muy importante en mi vida.



## Índice General

	Página
Resumen	1
Introducción	2
Marco teórico	4
• Antimicrobianos	4
• Actividad antibacterial	4
• Antibiótico naturales	4
• Ventajas de los antibióticos naturales	4
• Resistencia a los antimicrobianos	5
• <i>Staphylococcus aureus</i>	5
• <i>Escherichia coli</i>	6
• Shampoo	8
• Historia y definición	8
• Componentes del shampoo	8
• Importancia de los shampoos	9
• Jabón líquido	10
• Historia	10
• Método de acción	10
• Composición	11
• Diferencias entre jabón para perro y jabón para humano	11
• Propóleo	12
• Recolección del propóleo por las abejas	13
• Utilización del propóleo dentro de la colmena	13
• Características	13
• Componentes	14
• Flavonoides	14
• Propiedades benéficas	15
• Citotoxicidad del propóleo	16
Justificación	17
Objetivos	19
Metodología	20
Parte experimental	22
Resultados	28
Discusión	56
Conclusiones	58
Bibliografías	59
Anexos	63

## Índice de Tablas

Tabla 1.1 Evaluación de las características visibles de Jabón líquido con 1% de propóleo en el transcurso de los 3 meses de prueba.	28
Tabla 1.2 Evaluación de las características visibles de Shampoo con 1% de propóleo en el transcurso de los 3 meses de prueba	29
Tabla 2.1 Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a jabón líquido 1% de propóleo mantenido a temperatura ambiente.	34
Tabla 2.2 Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a jabón líquido 1% de propóleo mantenido a 60% de humedad y 32°C.	34
Tabla 2.3 Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a jabón líquido 3% de propóleo mantenido a temperatura ambiente.	35
Tabla 2.4 Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a jabón líquido 3% de propóleo mantenido a 60% de humedad y 32°C.	35
Tabla 2.5 Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a Shampoo 1% de propóleo mantenido a temperatura ambiente.	36
Tabla 2.6 Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a Shampoo 1% de propóleo mantenido a 60% de humedad y 32°C.	36
Tabla 2.7 Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a Shampoo 3% de propóleo mantenido a temperatura ambiente.	37
Tabla 2.8 Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a Shampoo 3% de propóleo mantenido a 60% de humedad y 32°C.	37
Tabla 3.1 Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en jabón líquido con 1% de propóleo contra <i>Staphylococcus aureus</i> .	46
Tabla 3.2 Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en jabón líquido con 3% de propóleo contra <i>Staphylococcus aureus</i> .	46
Tabla 3.3 Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en Shampoo con 1% de propóleo contra <i>Staphylococcus aureus</i> .	47
Tabla 3.4 Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en Shampoo con 3% de propóleo contra <i>Staphylococcus aureus</i> .	47
Tabla 4.1 Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en jabón líquido con propóleo contra <i>Escherichia coli</i>	48
Tabla 4.2 Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en Shampoo con propóleo contra <i>Escherichia coli</i> .	48
Tabla 1.0 Composición general de jabón líquido	27
Tabla 1.0 bis Composición general de shampoo	27

## Índice de gráficos

Gráfico 1.1 Resultados de las características visibles realizada a jabón líquido con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a un 60% de humedad y 32°C.	30
Gráfico 1.2 Resultados de las características visibles realizada a jabón líquido con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a un 60%	31

de humedad y 32°C.	
Gráfico 1.3 Resultados de las características visibles realizada a shampoo con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a un 60% de humedad y 32°C.	32
Gráfico 1.4 Resultados de las características visibles realizada a shampoo con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a un 60% de humedad y 32°C.	33
Gráfico 2.1.1 Resultados de la prueba de control microbiológico de jabón líquido con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad.	38
Gráfico 2.1.2 Resultados de la prueba de control microbiológico de jabón líquido con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad.	39
Gráfico 2.2.1 Resultados de la prueba de control microbiológico de jabón líquido con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.	40
Gráfico 2.2.2 Resultados de la prueba de control microbiológico de jabón líquido con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.	41
Gráfico 2.3.1 Resultados de la prueba de control microbiológico de Shampoo con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.	42
Gráfico 2.3.2 Resultados de la prueba de control microbiológico de shampoo con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.	43
Gráfico 2.4.1 Resultados de la prueba de control microbiológico de shampoo con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.	44
Gráfico 2.4.2 Resultados de la prueba de control microbiológico de shampoo con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.	45
Gráfico 3.1 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en jabón líquido 1% en un lapso de tres meses en condiciones de 60% de humedad, 32°C y a temperatura ambiente.	49
Gráfico 3.2 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en jabón líquido 3% en un lapso de tres meses en temperatura ambiente.	50
Gráfico 3.3 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en shampoo 1% en un lapso de tres meses en temperatura ambiente.	51
Gráfico 3.4 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en shampoo 3% en un lapso de tres meses en temperatura ambiente.	52
Gráfico 3.5 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en Jabón líquido sin propóleo en un lapso de tres meses en condiciones de temperatura ambiente.	53
Gráfico 3.6 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en shampoo sin propóleo en un lapso de tres meses en condiciones de temperatura ambiente.	54
Gráfico 4.1. Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en jabón líquido	55

con propóleo en un lapso de tres meses.	
Gráfico 4.2. Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en shampoo con propóleo en un lapso de tres meses.	55

### Índice de anexos

Anexo 1.- Costos	63
Anexo 2.- Límite máximo de microorganismos permitidos en un lote.	65
Anexo 3.- Análisis estadístico.	66
Anexo 4.- Medios para el control de calidad.	70
Anexo 5.- Cepas bacteriológicas utilizadas.	71
Anexo 6.- Cálculos para encontrar si los datos sospechosos son datos atípicos por medio de la prueba de Grubbs.	75

### Índice de imágenes

Imagen 1. Adición de la fase oleosa a la fase jabonosa	26
Imagen 2. Agitación empleando el agitador mecánico	26
Imagen 3. Vaciado del producto en las botellas	26
Imagen 4. Producto finalizado	26

### Índice de diagramas

Diagrama 1. Metodología de la elaboración de los productos.	20
Diagrama 2. Metodología de las pruebas realizadas al producto terminado.	21

### Índice de figuras

Figura 1.1 Principales flavonoides del propóleo	15
---	----

## Abreviaturas

- °C: grados Celsius
- ADN: Ácido Desoxirribonucleico
- ARN: Ácido Ribonucleico
- AREC: *Escherichia coli* resistente a la Metaciclina
- ALM: Agar Letheen Modificado
- ASD: Agar Dextrosa Sabouraud
- AMH: Agar Muller Hinton
- AN: Agar Nutritivo
- AREC: *E. coli* resistente a amoxicilina
- AVB: Agar Verde Brillante
- c.b.p.: cuanto basta para
- CAPE: phenyl ethyl ester of caffeic acid
- CDS: Caldo Dextrosa Sabouraud
- CLM: Caldo Letthen modificado
- ECET: *Escherichia coli enterotoxigénica*
- ECEP: *Escherichia coli enteropatogénica*
- ECEI: *Escherichia coli Enteroinvasiva*
- ECEH: *Escherichia coli Enterohemorrágica*
- ECEA: *Escherichia coli Enteroadherente*
- ECDA: *Escherichia coli Adherencia difusa*
- *E. coli: Escherichia coli*
- Fc: Fracción cristalizable
- FDA: Food and Drug Administration
- FESC: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
- GTF: Glucosiltransferasas
- IgM: Inmunoglobulina M
- IgG: Inmunoglobulina G
- LC: limite de control
- LCI: Limite de control Inicial
- LCS: Limite de control superior
- LPMN: Linfocitos polimorfonucleares
- LPS: lipopolisacárido
- LT: termolábil
- MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a metaciclina
- NMX: Norma Mexicana
- NOM: Norma Oficial Mexicana
- PBS: phosphate buffered saline
- pH: potencial de Hidrógeno
- *S. aureus: Staphylococcus aureus*
- ST: termoestable
- T°: temperatura
- UE: Unión Europea
- UFC: Unidad formadora de colonias

## Resumen

Antes del descubrimiento y la utilización de los antimicrobianos, las enfermedades infecciosas eran la principal causa de muerte, y lo siguen siendo en gran parte del mundo. (19)

El *Staphylococcus* es responsable de más del 80 % de las enfermedades supurales que padecen el hombre y los animales provocan procesos supurativos en la piel, e invaden cualquier parte del individuo donde puede causar infecciones severas, sobre todo si existe un debilitamiento general del huésped. (23)

La bacteria *E. coli* es una bacteria considerada tradicionalmente como uno de los principales patógenos intestinales, sistémicos y entéricos, y tiene gran importancia tanto por las enfermedades que causa tanto en humanos como en animales domésticos como por los grandes problemas económicos que causa (contaminación alimenticia, pérdida de animales de cría, entre otros). (26)

El presente trabajo tuvo la finalidad de demostrar por medio de diversas técnicas el efecto antimicrobiano de dos nuevas formulaciones elaboradas a base de propóleo las cuales tuvieron un 99.9% de inhibición bacteriana, pasando por diversos procesos de control de calidad, los cuales darán la veracidad de demostrar que se trata de un producto de confianza.

Alternadamente para aumentar la confianza en el producto se realizaron pruebas de efectividad para demostrar la influencia que tiene este sobre dos cepas bacterianas específicas: *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

## Introducción

La palabra shampoo tiene su origen en la palabra hindú “*champoo*”, que significa amasar, masajear.

Un shampoo es un producto formado por agentes tensoactivos con poder detergente, humectante, emulsionante y espumante. Con ello se asegura la limpieza del cuero cabelludo y cabello, dejándolo suave, brillante y fácil de manejar.

Dada la consistencia y adhesión de la suciedad al cabello, esta no puede ser eliminada con acciones simplemente mecánicas. La acción de los tensoactivos es la de debilitar las uniones físico-químicas entre la suciedad y su sustrato (el cabello), de forma que sea emulsionable en agua.

Un shampoo debe eliminar la suciedad, pero también conservar las características morfológicas y fisiológicas del cabello y del cuero cabelludo.

El shampoo, que originalmente fue producto de limpieza, se ha convertido con el tiempo en un auténtico tratamiento de belleza para el cabello. Un buen shampoo debe limpiar, no desengrasar en exceso ni resultar irritante, y dejar el pelo limpio, sedoso y suelto. Debe estar perfectamente adecuado a la naturaleza y estado del cabello. (9)

Las palabras jabón y saponificación comparten el mismo antepasado etimológico: *sapo*, el ungüento limpiador que los antiguos galos preparaban con grasa animal mezclada con cenizas de madera. (9)

La historia del jabón se remonta a la Antigüedad. Se han encontrado documentos que mencionan el uso de muchos materiales jabonosos y agentes limpiadores aunque no eran verdaderos jabones sino productos realizados únicamente con cenizas de corteza de árbol. En el siglo 1 d.C., el historiador romano Plinio describió las diversas formas de jabones duros y blandos que contenían colorantes. Eran conocidos como *rutilandis capilis* y eran utilizados por las mujeres romanas para limpiar sus cabellos y teñirlos de colores brillantes. La producción de jabón era común en Italia y en España. Durante el siglo VII, la mayoría de los jabones se producían a partir de sebo de cabra, mezclando con la ceniza de haya que proporcionaba el álcali. En 1783, en forma accidental surgió la reacción que se produce hoy en la fabricación de

jabón: cuando el aceite de oliva se hierve con el óxido de plomo, produce una sustancia de sabor dulce que se denominó *olsiiss*, pero que hoy se conoce como “glicerina”. (2)

Los Syndets son tensioactivos de síntesis que tienen propiedades emulsionantes, humectantes, detergentes y espumantes, y nos ofrecen una serie de ventajas frente a los jabones. (39)

El jabón tiene una naturaleza muy contradictoria; tiene una “cabeza” afín al agua, compuesta de sodio o potasio (extremo hidrófilo), y una “cola” afín al aceite, que consiste en una cadena de ácidos grasos (extremo hidrófobo). La eficacia del jabón como agente limpiador procede directamente de esta contradicción, puesto que el jabón actúa como intermediario entre dos sustancias radicalmente incompatibles: el aceite y el agua. (9)

Todos los días, los consumidores utilizan los jabones y geles antibacterianos en el hogar, el trabajo, la escuela y en otros lugares públicos. Particularmente, porque muchos consumidores los utilizan, la FDA cree que debe haber beneficios comprobados para sustentar cualquier riesgo potencial. (17)

## **Marco Teórico**

### **Antimicrobianos**

Los antimicrobianos se encuentran entre los medicamentos que más se venden y se consumen en México: representan entre el 15 y el 25 por ciento del total del mercado de medicamentos, cuya venta en el país tiene un valor anual aproximado de nueve mil millones de dólares en farmacias privadas en el país, una proporción mayor cuando se compara con otros países desarrollados o en transición con mercados farmacéuticos grandes. (34)

### **Actividad antibacteriana**

La actividad antibacteriana se define como “La capacidad que posee un Fármaco o compuesto natural de inhibir el crecimiento de microorganismos”. Generalmente los compuestos que poseen dicha actividad tienen gran interés a nivel mundial, ya que con ellos se puede controlar y hasta eliminar las infecciones provocadas por los microorganismos. (18)

### **Antibióticos naturales**

Los antibióticos naturales son simplemente algunos vegetales o minerales, que podemos encontrar en la naturaleza, que actúan inhibiendo el crecimiento y el desarrollo normal de microorganismos. De esta manera, prevenimos y hasta podemos curar muchas enfermedades. (18)

### **Ventajas de los antibióticos naturales vs sintéticos**

1. Por lo general carecen de efectos secundarios
2. Rara vez causan alergias
3. Eliminan únicamente microorganismos que son nocivos para el cuerpo
4. Precio barato y fáciles de encontrar. (18)

## **Resistencia a los antimicrobianos**

La resistencia a los antimicrobianos es la resistencia de un microorganismo a un medicamento antimicrobiano al que originalmente era vulnerable, de tal forma que los tratamientos convencionales se vuelven ineficaces y las infecciones persisten, lo que incrementa el riesgo de propagación. La evolución de las cepas resistentes es un fenómeno natural que ocurre cuando los microorganismos se ven expuestos a fármacos antimicrobianos, y es posible un intercambio de características de resistencia entre ciertos tipos de bacterias. El uso inapropiado de medicamentos antimicrobianos acelera ese fenómeno natural. (40)

## ***Staphylococcus aureus***

### Patogenia

El *S. aureus* es potencialmente patógeno, las infecciones estafilocócicas específicas son los forúnculos, el impétigo ampollar, la osteomielitis, la enteritis y la intoxicación alimentaria por enterotoxina. *S. aureus* puede producir una variedad de procesos infecciosos que van desde la infección cutáneas relativamente benignas hasta enfermedades sistémicas potencialmente fatales. Las infecciones cutáneas incluyen foliculitis simple y el impétigo (infección superficial de la piel en niños). (18)

Es un agente de gran relevancia intrahospitalaria, donde ha adquirido resistencia a la Oxacilina. La contaminación intrahospitalaria se lleva a cabo a través de las manos del personal a cargo.

### Factores de virulencia

Los factores de virulencia que presenta *S. aureus*, pueden ser productos extracelulares o propios de la célula bacteriana.

- 1.- Lipasas. Degradan los ácidos grasos presentes en los tejidos cutáneos sanos.
- 2.- Enterotoxinas. Proteínas relativamente estables al calor y resistentes a enzimas proteolíticas. Suprimen la actividad de IgM aumentan la susceptibilidad a generar shock. La proteína A y la enterotoxina C, regulan las moléculas de adhesión a los queratinocitos y facilitan la adherencia de las bacterias.
- 3.- Proteína A. Localizada en la superficie de la pared bacteriana, se une a la región Fc de la IgG, inactivándola.

4.- Penicilinasas o  $\beta$ -lactamasas. Enzimas que hidrolizan el anillo  $\beta$ -lactámico presente en la estructura molecular de las penicilinas.

#### Resistencia

Tiene resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos mediada por las enzimas (penicilasas o  $\beta$ -lactamasas), resistencia a la meticilina y es conferida por una proteína de unión a penicilina (PBP) adicionalmente llamada PB2' o PB2a (30) y resistencia a vancomicina, mediada por alteraciones en la pared celular que atrapan el antibiótico antes de llegar al sitio de acción. (22)

### ***Escherichia coli***

#### Patogenicidad

*Escherichia coli* (*E. coli*) forma parte de la flora normal del intestino del hombre y los animales de sangre caliente, constituyendo una de las especies bacterianas más abundantes en esta localización. (18)

*E. coli* es la especie bacteriana más comúnmente recuperada en los laboratorios clínicos y ha sido relacionada con enfermedades infecciosas que involucran virtualmente todos los tejidos y sistemas de órganos. *E. coli* es uno de los organismos comunes involucrados en sepsis y shock inducido por endotoxinas. Las infecciones del tracto urinario y de las heridas, la neumonía en pacientes hospitalizados inmunosuprimidos y las meningitis en los neonatos son otras formas comunes de infección causada por *E. coli*. (34)

#### Factores de virulencia

- Toxinas (LPS, Shiga, LT, ST).
- Plásmido transmisibles
- Adhesinas (fimbria tipo 1 (sensible a la manosa), fimbria P (capacidad para unirse con los antígenos P del grupo sanguíneo humano) y adhesina X).
- Hemolisina
- Bacteriocinas
- Intercambio genético por transducción y conjugación. (37)

## Resistencia

El patrón de resistencia bacteriana está dado principalmente a la ampicilina, eritromicina, penicilina y trimetropim-sulfametoxazol (25) por betalactamasas y genes que codifican formas mutantes de la enzima blanco en el caso de la trimetropim. (33)

## **Shampoo**

### **Historia y definición**

El término y el servicio fueron introducidos en gran Bretaña por Sake Dean Mahomed migrante de India, que abrió baños de shampoo conocidos como Baños Indios de Vapor de Mahoma. Estos baños eran similares a los baños Turcos, pero los clientes recibían un tratamiento indio de champi (masaje terapéutico).

Kasey Hebert fue el primer fabricante conocido de shampoo, y su origen aún se le atribuye a él. Hebert vendió su primer shampoo, con el nombre de “Shaempoo” del hindú champo, que significa “dar masaje” (en las calles de Londres). (11)

Los shampoos se encargan de eliminar las secreciones sudoríparas y sebáceas, de las células muertas, la suciedad del ambiente y los restos cosméticos. (4)

Todos los shampoos están compuestos de 3 ingredientes básicos. El agente tensoactivo, los excipientes y por último los aditivos. (11)

### **Componentes del Shampoo**

#### ❖ Tensoactivos

Son compuestos que deben ser capaces de arrancar la suciedad acumulada sobre la superficie. Existen varios tipos: aniónicos (laurilsulfato de sodio), catiónicos (aminas), no iónicos (polialcoholes), anfóteros (cocoamidopropil betaína). (3)

#### ❖ Excipientes

Los shampoos son disoluciones más o menos espesas, por lo que necesitan un excipiente que facilite su aplicación. El excipiente más habitual es el agua, esta debe ser desionizada, destilada o desmineralizada. (3)

### ❖ Aditivos

Son sustancias que evitan el deterioro del cosmético (conservantes) o que mejoran el aspecto (colorantes y perfumes), consiguiendo un producto estable y con mejores características de apariencia. El consumidor suele asociar el color con el olor estableciendo una correlación entre ambos y es imprescindible tenerlo en cuenta a la hora de formular un shampoo. (3)

### **Importancia de los shampoos antimicrobianos**

La demanda de shampoo para caballos se ha convertido en todo un fenómeno. El negocio de las marcas cosméticas se ha acelerado, y hasta los supermercados han sacado marcas blancas de champú con biotina. (20)

En cuanto a los shampoos antibacterianos para hidratar apropiadamente el estrato córneo, el champú deberá usarse durante al menos 10-15 minutos. (21). Si el tiempo de contacto es muy poco y los baños son demasiado frecuentes, esto conducirá a la deshidratación de la capa córnea, sequedad de la piel y una disminución en la función de barrera de la piel.

Los shampoos antisépticos serán necesarios, por lo general, dos o tres veces a la semana hasta que la infección esté bajo control. La aplicación del shampoo deberá ir seguida de un aclarado a fondo para reducir los efectos no deseados, tales como irritación, eritema, prurito y escamas. La duración media del aclarado debería ser de 5-10 minutos. (21)

## **Jabón Líquido**

### **Historia**

Se dice que fue en Roma donde apareció el jabón por primera vez. Fue por casualidad, al contemplar cómo al caer la lluvia sobre la grasa de los animales sacrificados, brotaba espuma. Desde hace más de 5.000 años los israelíes ya lo incluían dentro de sus propias leyes para determinar la higiene personal y se cree que los fenicios lo trajeron a Europa en el año 600 antes de Cristo. Con la caída del Impero Romano, la fabricación de jabón desapareció en el Continente y no fue hasta el siglo XVI cuando comenzaron a desarrollarse nuevas técnicas con las que obtendrían un jabón más puro.

Una de las creencias más difundidas por todo el mundo y menos acertada, es que en la Edad Media la higiene no se valoraba. Por el contrario, fue en esa época cuando proliferaron los baños públicos y las clases más privilegiadas contaban con los suyos propios. Fue en la Baja Edad Media cuando los baños empezaron a cerrarse, y ya durante el Renacimiento, la gente se limitaba a perfumarse para cubrir los olores.

Desde entonces, la elaboración del jabón ha pasado por muchas fases: la aportación de los norteamericanos, el descubrimiento de nuevas técnicas, el desarrollo de la química, su industrialización y comercio, pero sobre todo, su inclusión en nuestras vidas como un elemento indispensable para nuestra higiene y salud. (27)

### **Método de acción**

A menudo, los jabones líquidos son jabones de potasio que se han diluido con diferentes proporciones de agua. Aunque el jabón líquido puede elaborarse utilizando únicamente aceite de coco, hidróxido de potasio y agua, muchas empresas añaden alcohol y otros clarificadores para hacer que el jabón sea completamente transparente, además de productos químicos sintéticos para perfeccionar su consistencia. (9)

Cuando el jabón se ha disuelto en el agua, las moléculas de jabón afines a los aceites son atraídas por las manchas de suciedad de la piel y forman un anillo alrededor de las partículas llamado micela. Estos extremos hidrófobos descomponen la partícula en pequeños glóbulos. Mientras, las mitades hidrofílicas de las moléculas estiran hacia fuera, hacia el agua. La acción

limpiadora del jabón es así un proceso de doble efecto: una disgregación, ya que los extremos hidrófobos rodean y emulsionan la suciedad, y un drenaje de agua sucia, puesto que los extremos hidrófilos estiran hacia el agua de alrededor. (9)

### **Composición**

Algunos de los más comunes componentes del jabón líquido, aparte de los anteriormente mencionados del shampoo, son los siguientes:

#### ❖ Aceites

Se utilizan diferentes aceites según sus propiedades, enriquecen el producto final. (9)

#### ❖ Esencias

Para aromatizar debe utilizarse aceites esenciales puros y fragancias especiales para jabón. (1)

#### ❖ Disolventes

Los disolventes diluyen literalmente los cristales de jabón y luego los mantiene en suspensión, permitiendo que los atraviese la luz. (9)

#### ❖ Conservantes

Muchos aditivos del jabón líquido (como el bórax, la glicerina, el alcohol, la colofonia o el ácido cítrico) actúan como conservantes. (9)

#### ❖ Bactericidas

Los jabones sintéticos son los que predominan actualmente el mercado, estos se caracterizan por tener un pH cercano al neutro del agua. Los pH neutros atraen a los microbios; como consecuencia, están repletos de gran cantidad de agentes químicos antimicrobianos. (9)

### **Diferencias entre jabón para uso veterinario y jabón para humano**

El jabón líquido de uso humano no puede ser utilizado de manera veterinaria, la explicación hay que buscarla en el pH de la piel del animal, que es muy distinto al humano. Mientras que la piel del perro tiene un pH cercano a 7.5 (básico), el nuestro apenas llega a 5.5 (ácido). Esta diferencia es demasiado grande para poder utilizar los mismos productos durante el baño.

Los ingredientes de los jabones actúan sobre el pH de la piel, por lo que si se usa un producto humano para el perro le provocaremos irritación e, incluso, heridas. (24)

## Propóleo

El termino propóleo es derivado de dos palabras griegas, “*Pro*”, que significa antes y “*Polis*”, ciudad, y es empleada en el sentido de defensa de la ciudad. Consiste básicamente de exudados de diferentes plantas que las abejas combinan con secreciones mandibulares y cera. Esto último es soportado por recientes descubrimientos, en cuanto al contenido de ácidos grasos de origen animal, en muestras de propóleos fresco.

El conocimiento del propóleo por el hombre, es mas reciente que el de la miel, sin embargo su uso se remonta a varios milenios antes de nuestra era. En el Egipto el propóleo era bien conocido por los sacerdotes. (28)

El propóleo es una mezcla de composición química compleja que contiene bálsamos, aceites etéreos, polen, vitaminas, algunos minerales y proteínas, sustancias que le confieren una variedad de propiedades biológicas de gran interés para fines terapéuticos. (29)

Es una sustancia resinosa recolectada por abejas; *Apis mellifera* procedentes de diversas fuentes vegetales y se mezcla con la cera de abejas, secretada es un material multifuncional utilizado por las abejas en la construcción, el mantenimiento y la protección de sus colmenas. (28)

Es un producto natural no tóxico con múltiples efectos farmacológicos y una composición química compleja. Varios compuestos se han identificado en el propóleo, y tres grupos químicos distintos se ha demostrado que están presentes: ( i ) flavonoide agliconas, ( ii ) derivados del ácido cinámico, y ( iii ) terpenoides. (28)

El propóleo tiene una naturaleza compleja elaborado por las abejas a partir de resinas, aceites esenciales y polen que colectan en las zonas de vida, donde realizan su actividad de pecoreo. En el proceso de recolección, transporte y almacenamiento a la colmena, adicionan sustancias enzimáticas y cera, de secreciones glandulares del hipofaringe y glándulas cereras presentes en los esternitos del abdomen. Adicionalmente, puede añadir microelementos del entorno, donde el producto final es de consistencia viscosa, con tonalidades de color castaño, marrón, pardo, rojizo y verde, en algunos casos negro, según sea el origen botánico y geográfico. (15)

### **Recolección del propóleo por las abejas**

La recolecta del propóleo se lleva a cabo por un número reducido de abejas (de más de 15 días de vida) y es realizada durante las horas más calientes del día, por lo regular de las 10:00 a las 15:30 horas. Cada abeja después de haber localizado con sus antenas la partícula más adecuada de resina en alguna planta, procede a desprenderla valiéndose de sus mandíbulas y del primer par de patas, auxiliándose con la secreción de sus glándulas mandibulares (ácido 10-hidroxi-2-decenoico), le permite el ablandamiento de la goma. Posteriormente la abeja tritura y moldea con sus mandíbulas el pedazo arrancado y utilizando una de las patas del segundo par, lo transfiere a la corbícula del tercer par de patas, dicha acción la puede efectuar en el lugar de colecta o en pleno vuelo. Para completar una carga de propóleo (llenar 2 cestillas de su tercer par de patas), una abeja se lleva de 15 minutos a una hora, dependiendo principalmente de la temperatura ambiente. Cabe mencionar que una temperatura por debajo de los 21 °C y por arriba de los 28 °C, parece inhibir este comportamiento. (28)

### **Utilización del propóleo dentro de la colmena**

Las abejas utilizan el propóleo dentro de la colonia con diversos fines, los cuales se señalan a continuación: Embalsamado de los intrusos muertos dentro de la colmena, tapar grietas o hendiduras de la colonia, disminuir el acceso de la piquera, alisar asperezas dentro de la colmena, esterilización de la colmena y las celdas donde la reina pondrá los huevos, aislante térmico, fijar los panales a los cuadros o ramas de los árboles, evitar la vibración de los panales y darle impermeabilidad al agua. (28)

### **Características**

Las características organolépticas de los propóleos dependen del origen botánico y de su grado de frescura y conservación. La textura se puede ver afectada por la temperatura, reblandeciéndose con el calor (30 °C) y mostrándose quebradizos con el frío ( $T^{\circ} < 15^{\circ} \text{C}$ ). Su olor es fuertemente penetrante, balsámico, agradable y dulzón; de sabor variable, desde suave o balsámico a fuerte o picante; muestra un color particular según su procedencia botánica: amarillento, rojizo, verdoso o negruzco. (10)

## **Componentes**

Se han identificado como metabolitos: lactonas, saponinas, fenoles, triterpenos, taninos, alcaloides, flavonoides, sustancias aminadas y leucoantocianidinas, estas últimas sólo en extractos acuosos.

El propóleo es una sustancia compleja, constituida por una gran variedad de compuestos químicos, su composición no es estable y varía según la fuente de procedencia, se caracteriza por tener un 55% de resinas y bálsamos aromáticos, 30% de ceras, 10% de aceites esenciales y 5% granos de polen.

Algunos autores plantean la existencia de alrededor de 18 componentes y se señala que entre estos los principales son compuestos del tipo flavonoide, tales como, las flavonas, flavones y las flavononas.

Se han reportado alrededor de 38 flavonas, 12 derivados del ácido benzoico, 14 derivados del alcohol cinámico y el ácido cinámico, 12 componentes entre alcoholes, cetonas y fenoles, 7 terpenos, 11 esteroides, 7 azúcares y 2 aminoácidos.

Los métodos instrumentales de análisis actualmente han permitido identificar entre 150 y 180 compuestos distintos en un mismo producto, demostrándose la variabilidad y complejidad del producto, que han dado validez y versatilidad de uso terapéutico. (15)

## **Flavonoides**

Los flavonoides son productos naturales ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Esta pudiera ser una de las razones que justifica su abundancia en propóleos fundamentalmente de zonas templadas, aunque no son exclusivos de esta localización.

Más del 50 % del peso de los propóleos de zonas templadas está constituido por flavonoides. Varios estudios han empleado muestras de propóleos de diversos orígenes geográficos: China, Uruguay, Croacia, Brasil, Taiwán, Bulgaria, Argentina, Australia, Chile, Hungría, Estados Unidos, Nueva Zelanda, Sudáfrica, Tailandia, Ucrania, Uzbekistán, Turquía, Grecia, Japón e Italia y como resultado se han aislado flavonas (acacetina, apigenina), flavonoles (kaempferol, galangina, aromadendrina), flavanonas (pinobaksina, pinocembrina), chalconas, dihidrochalconas y otros. (9)

## Propiedades benéficas

Una de las propiedades más importante del propóleo es su actividad antimicrobiana, la cual se le atribuye fundamentalmente a los flavonoides. (15)

El propóleo presenta propiedades anti inflamatorias, inmunoestimulantes, hepatoprotectoras, carcino- estáticas, antimicrobianas, antivirales, antifúngicos, antiprotozoarios, anestésicos y de regeneración tisular. Diversos trabajos han demostrado que el propóleo es una fuente natural de antioxidantes, esto debido a su actividad anti radicalaria particularmente, frente a radicales alcoxi y en menor grado, a superóxido y al efecto inhibitor sobre el ión cuproso, iniciador de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad. (9)

Como puede observarse el propóleo dada su acción antimicrobiana es una sustancia de grandes potencialidades para el tratamiento de afecciones provocadas por diferentes microorganismos principalmente sobre bacterias Gram positivas. (15)

Se ha demostrado que inhibe la actividad de glucosiltransferasas derivada de bacterias (GTF). La apigenina (fig. 1.1) es un nuevo y potente inhibidor de la actividad de GTF, y TT - farnesol se encontró como un agente antibacteriano eficaz. (12)

Los métodos instrumentales de análisis han permitido identificar entre 150 y 180 compuestos distintos, demostrándose la variabilidad y complejidad del producto, que han dado validez y versatilidad de uso terapéutico. (15)

Poseen, además, una importante acción antioxidante comparable a la vitamina E. Desde este punto de vista, en principio, los más interesantes de identificar y cuantificar son: quercitina, Kaempfenol, Naringenina, Acacetina, Apigenina, Pinocembrina y Galangina. Actuando en forma sinérgica con los anteriores se encuentran los siguientes compuestos fenólicos: ácido caféico, ácido ferúlico, ácido cinámico. (15)

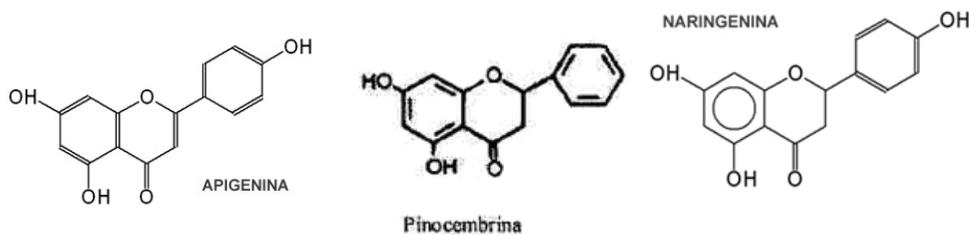


Figura 1.1 Principales flavonoides del propóleo

## Citotoxicidad del propóleo

Una investigación de la Universidad Técnica de Valencia estudio el efecto *in vitro* de la citotoxicidad del propóleo en leucocitos.

Según los resultados de la investigación, este nivel de concentración óptimo está entre 120-500 microgramos/mL. (16)

Se demostró que el propóleo poseía un efecto citotóxico hacia leucocitos en cultivo celular; donde hubo una muerte aproximada de la tercera y hasta la cuarta parte después de la primera y segunda hora. (16)

Cabe mencionar que los experimentos que realizaron son *in vitro* y que al interactuar *in vivo* los elementos implicados en este experimento podría ocurrir un efecto Buffer del organismo, ya que al diluirse el propóleo en el cuerpo puede minimizar el efecto tóxico hacia los LPMN más no así su efecto bactericida y antiinflamatorio. En un tubo de ensayo al que se agregó propóleo a las células se vio una marcada aglutinación, lo cual se propone pueda ser uno de los mecanismos de efecto antibacterial.

El propóleo a dosis altas por vía digestiva en animales (10 a 15 mg/kg de peso) no produce efecto tóxico ni disturbio patológico a un a largo plazo, esto pudiera tener cierta relación a un efecto dosis-respuesta. Y más autores que refieren que el propóleo produce acelerada reparación epitelial post-extracción en ratas. Mientras que otros, usando propóleo encontraron estimulación del proceso regenerativo en perros, así como aceleración en la osteogénesis y regeneración del tejido óseo con marcado efecto antibacteriano. Aunque cabe señalar que ellos no estaban midiendo muerte celular como el primer caso. (31)

## Justificación

El propóleo en México no ha tenido el mismo auge que en otros países los cuales ya están aprovechando los beneficios de dicho producto haciéndose de diferentes productos de este; un ejemplo claro es España el cual ya ha desarrollado en distintas tiendas naturistas dichos productos en el caso del shampoo y el jabón líquido los precios bastante altos aun oscilan entre los 8.80 euros y 11.3 euros. (32) Dichos productos aun sin estandarización y solo elaborados como productos naturistas.

En base a lo anterior tenemos un motivo más para adentrarnos en la investigación de campos de aplicación del propóleo.

La apicultura es una actividad de creciente importancia en el mundo, debido a la gran variedad de productos naturales que ofrece y a la fuerte tendencia del hombre a consumir productos mínimamente procesados. Al propóleo se le atribuyen variados usos en la medicina popular, tomando en cuenta que las abejas lo usan para desinfectar su colmena, actuando como antibiótico natural, agente antiviral y antimicótico. (34)

Debido a ello hoy en día se buscan productos que posean menos cantidad de activos sintéticos los cuales han llegado a producir algunos efectos dañinos.

El mercado de la Unión Europea para productos apícolas es el más importante del mundo ya que los consumidores de los 27 Estados Miembros son grandes demandantes de productos naturales, orgánicos y medicinales, en especial los consumidores Alemanes, Franceses y del Reino Unido.

En el año 2008 las importaciones de propóleos naturales de los 27 países de la UE, ascendieron a 19.177,7 miles de euros, independientemente de esto el principal país exportador fue la República Popular de China, que representó más del 26% del total, seguida por Polonia, Francia, los Países Bajos,

Alemania y Estados Unidos. Argentina es el país de América Latina que exportó por mayor valor (más de € 500.000, equivalentes al 2,6%).

En promedio, el mercado nipón paga cerca de 50 dólares/kg de propóleo y es un gran consumidor en el mundo.

Especialistas nacionales señalan precios del orden de 100 dólares/kilo, pagado por Japón para el propóleo que importa de Brasil, y de 30 a 35 para los de China y Cuba. (35)

Esto implica que el mercado de productos apícolas está aumentando día con día mostrando que es un área en la cual no podemos quedarnos atrás y debemos comenzar a acaparar el mercado de nuevos productos estandarizados de propóleo y sus efectos benéficos.

Los jabones antibacterianos (a veces llamados antimicrobianos o antisépticos) contienen ciertos ingredientes químicos ausentes en los jabones comunes. Estos ingredientes se añaden a muchos productos comerciales en un esfuerzo por reducir o prevenir la contaminación bacteriana.

Un gran número de jabones líquidos que llevan la etiqueta de “antibacteriano” contienen triclosán, un ingrediente que inquieta a muchos grupos ambientalistas y de la industria. Estudios en animales han demostrado que el triclosán puede alterar el funcionamiento de las hormonas en el cuerpo. (17) Por ello es que nuestro producto libre de todas esas sustancias es una alternativa ideal para evitar esos efectos dañinos.

El trabajo realizado fue enfocado al área veterinaria debido a la rama de investigación que nos fue asignada, sin embargo en un futuro y con las modificaciones correspondientes se podría dar uso de esta investigación en la población humana.

## **Objetivos**

### **General**

- Demostrar un uso más del propóleo al elaborar productos de uso cosmético a base del mismo para eliminar microorganismos potencialmente patógenos en el sector veterinario.

### **Específicos**

- Elaborar shampoo y Jabón líquido con extracto de propóleo en base a normas (NOM-073-SSA1-2005, NOM-089-SSA1-1994, y NMX-BB-040-SCFI-1999) para asegurar la calidad y eficiencia del producto.
- Someter los productos elaborados a una prueba de estabilidad acelerada en base a la NOM-073-SSA1-2005 para que verifiquen que se cumplan los parámetros establecidos.
- Realizar periódicamente una prueba que demuestre la actividad antimicrobiana de los productos y evaluar dicha actividad a través del tiempo mediante una metodología con referencia a la NMX-BB-040-SCFI-1999.
- Observar el control microbiológico de los productos por medio de evaluaciones periódicas en base a la NOM-089-SSA1-1994 para comprobar el estado de los productos a lo largo del tiempo de prueba.

### **Hipótesis**

- Si el propóleo tiene propiedades antimicrobianas entonces los productos generados a partir de este poseerán también un efecto antimicrobiano.

## Metodología

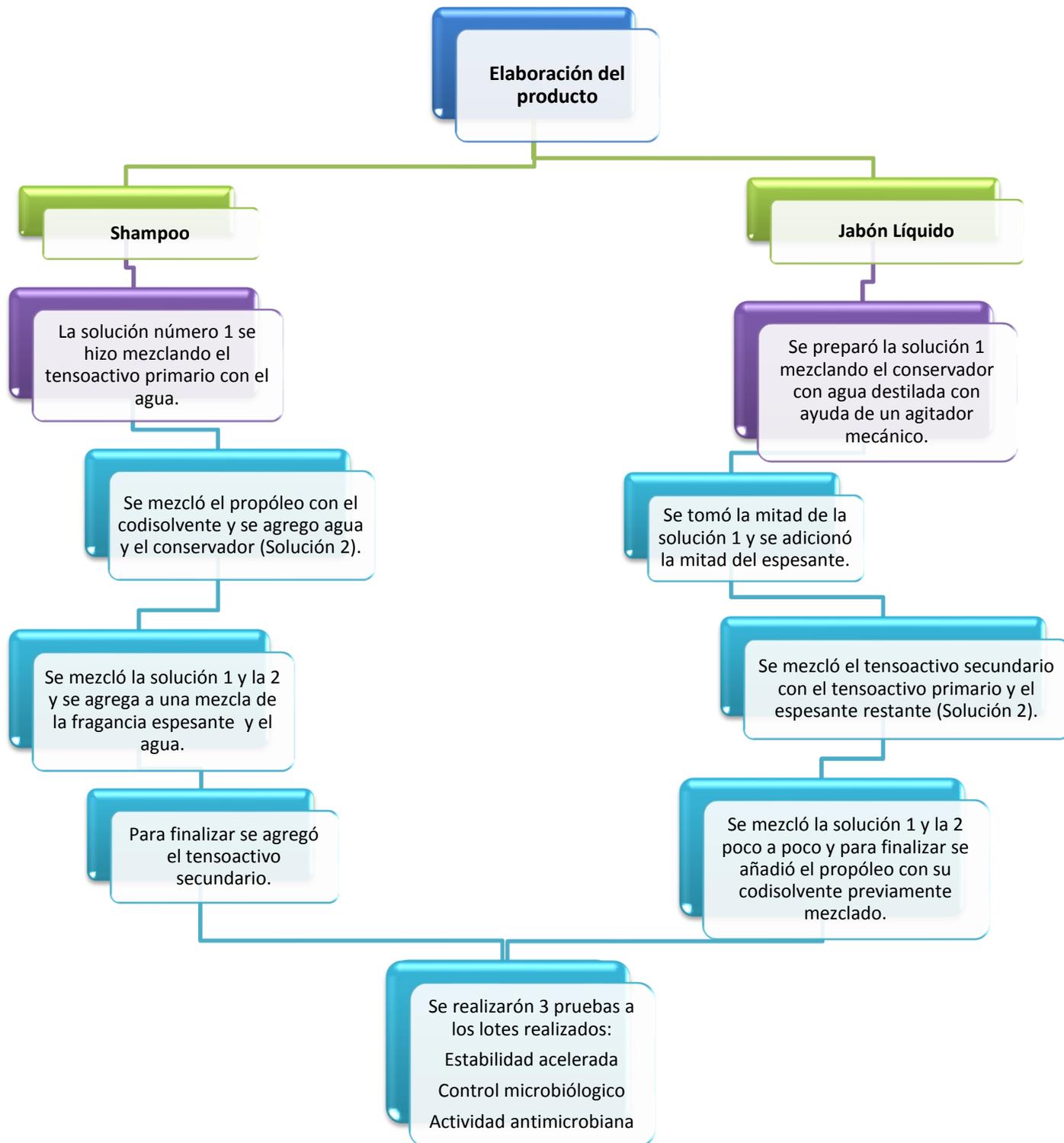


Diagrama 1. Metodología de la elaboración de los productos.

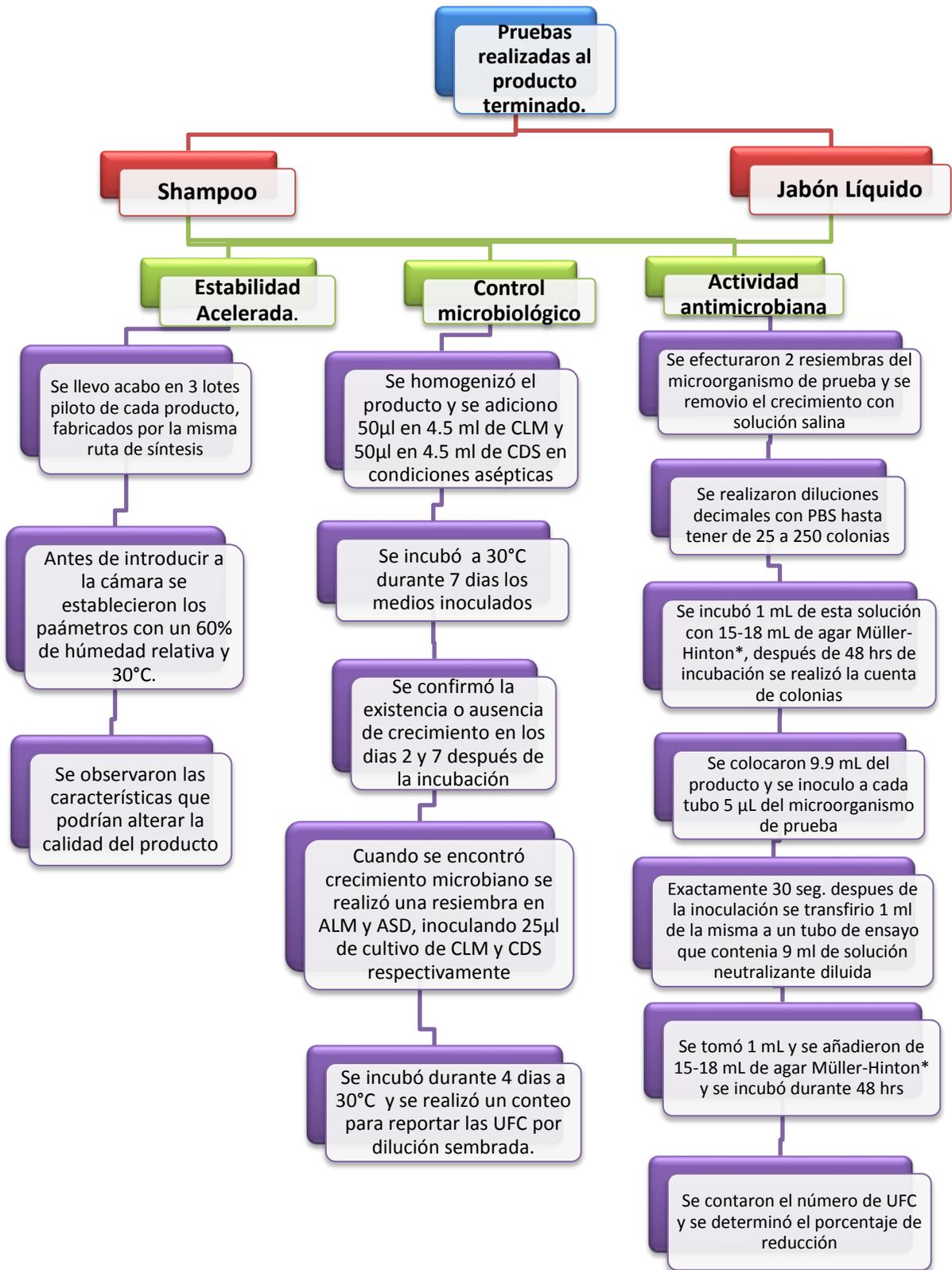


Diagrama 2. Metodología de las pruebas realizadas al producto terminado

\*Se utilizó agar MH en vez de cuenta estándar

## Parte experimental

### Lugar de ensayo

El presente trabajo se desarrollo en el laboratorio 6 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4 y en el LEM de Farmacia de la FESC campo 1.

### Muestra de propóleo

La muestra fue proporcionada por el Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez traída de Toluca.

### Técnicas

#### ✓ Prueba de Estabilidad

La prueba de estabilidad se le realizo al jabón líquido y shampoo en una cámara de estabilidad marca CARON con las siguientes consideraciones:

- Selección de lotes: Los estudios de estabilidad se llevo a cabo en tres lotes piloto fabricados por la misma ruta de síntesis y aplicando el mismo sistema de manufactura en los 3 lotes. (44)
- Condiciones del estudio: Se realizo a 30° C a 60% HR (humedad relativa) durante 3 meses dentro de la cámara de estabilidad. Se realizaron análisis pertinentes (pasos 2, 3, 5 de las técnicas) de los lotes cada mes y se registraron los cambios.

#### ✓ Determinación de los parámetros de color, olor y apariencia

- **Color:** Se hizo directamente en la botella ya que por su transparencia\* permitió la observación sin problema. Se observó el color y la presencia o ausencia de partículas.
- **Olor:** Se abrió la boca de la botella y se analizo si conserva un aroma similar al inicial o agradable en cada evaluación
- **Apariencia:** Se determino si mantiene el mismo grado de transparencia o turbidez o si presenta una separación de fases.

\*Las botellas eran transparentes y no ambar, pero manteniendo cuidado de que permanecieran en un lugar oscuro debido a la susceptibilidad del propóleo por la luz.

✓ **Control de calidad**

**Preparación preliminar de las muestras**

- Se colocó 0.05 mL. en 4.5 mL de CLM y 0.05 mL en 4.5 mL de CDS en condiciones asépticas para evitar contaminación de la muestra.

✓ **Procedimiento**

- Se incubo a 30°C durante 7 días los medios de cultivo inoculados.
- Se verifico si existe crecimiento a los 2 y 7 días de incubación.
- Se hizo una resiembra de las muestras donde había dudas de desarrollo microbiano en ALM y PDA, inoculando 0,5 mL de cultivo del CLM y CDS respectivamente, empleando el método de vaciado en placa. Se incubaron durante 4 días a 30°C.
- Al no haber crecimiento se registro como no contaminado. (41)

✓ **Límite del control de calidad**

Por tratarse de un producto para el cuerpo se clasifica como un producto tipo C que como si cumple con las especificaciones apropiadas (**anexo 2**) se clasifico como un producto apropiado para su uso. (42) (41)

✓ **Actividad antimicrobiana**

Este método se baso en determinar el porcentaje de reducción de un número determinado de microorganismos, cuando se ponen en contacto con un germicida, bajo condiciones de prueba específicas. (43)

**Preparación de la suspensión de los microorganismos de prueba**

Antes de realizar la prueba, se efectuaron dos resiembras de cada uno de los microorganismos de prueba e incubaron 24 h a una temperatura de 37°C en tubos con 12 mL de agar nutritivo inclinado.

Se removió el crecimiento de cada tubo, con 3 mL de solución salina, y se transfirió el sobrenadante a un tubo de ensayo estéril y continuo diluyendo con la misma solución hasta

obtener una suspensión que leída a una longitud de onda de 580 nm, dé una lectura entre 3 % y 5 % de transmitancia.

Se determino en la suspensión el número de UFC / mL y preciso el por ciento de transmitancia de una suspensión que contenga de  $75$  a  $125 * 10^8$  UFC / mL. (43)

#### Determinación de la cuenta viable inicial

En tubos estériles que contenían solución amortiguadora de fosfatos diluida estéril, se transfirió 1 mL de la suspensión de los microorganismos de prueba del paso 5.1 (*Staphylococcus aureus* y *E. coli*) y se efectuaron diluciones decimales 1: 10000 y 1:100000 necesarias para obtener placas que contuvieran cada una entre 25 y 250 colonias.

Se coloco en cajas de Petri estériles, 1 mL de cada dilución, y se agrego a cada placa de 15 mL de agar Mueller Hinton, se homogeneizó y dejo solidificar, se invirtieron las cajas de Petri e incubaron durante 48 h a 35°C. Se contaron las colonias contenidas en cada una de las cajas, en un cuenta colonias. (43)

#### Procedimiento

##### Inoculación de la muestra

Para cada uno de los microorganismos de prueba (*Staphylococcus aureus* y *E. coli*), se midió exactamente 9.9 mL del producto, y se transfirió a tubos de ensayo adecuados con tapón.

Se agito los tubos, y se suspendió la agitación justamente antes de la inoculación, para que en el momento de la misma, aún existiera movimiento residual del líquido y así facilitar la incorporación del inculo. Se inoculo en forma individual cada tubo con 0.1mL de cada uno de los microorganismos de prueba (*Staphylococcus aureus* y *E. coli*) en el centro de la superficie del líquido, evitando tocar con la pipeta, el cuello o las paredes del tubo.

Se agito el tubo con la muestra inoculada y exactamente 30 s después de la inoculación, se transfirió 1 mL de la misma, a un tubo de ensayo conteniendo 9 mL del caldo neutralizante, se mezclo y transfirió una alícuota de 1,0 mL a cajas de Petri estériles, se agrego a cada placa de 15 mL del medio agar Mueller Hinton, se homogeneizó, se solidifico y se invirtieron las placas e incubaron durante 48 h a 35°C.

Después del período de incubación, se contaron el número de UFC en las placas. (43)

## Representación de los resultados

Se promediaron los resultados de las placas de la cuenta viable inicial y de las células sobrevivientes y calcular el % de reducción mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de reducción} = 100 - \frac{S \times 100}{C.V.}$$

S: son las células sobrevivientes UFC/mL, y

C.V. es la cuenta viable inicial

Se reportó el porcentaje de reducción obtenido en la muestra del producto.

(43)

.

## Elaboración del shampoo y jabón líquido

Se pesó la materia prima (Tablas 1.0 y 1.0 bis) con ayuda de una balanza granataria y una balanza analítica según la cantidad necesaria a pesar.

Se llevo a cabo en 3 fases (jabonosa, oleosa, excipientes) que se mezclaron en un vaso metálico (Imagen 1) y utilizando un agitador mecánico (Imagen 2).



Imagen 1. Adición de la fase oleosa a la fase jabonosa



Imagen 2. Agitación empleando el agitador mecánico

Una vez mezclado se envasó en botellas de pet de 100 mL previamente etiquetadas (Imagen 3) y se organizo el producto de acuerdo a los lotes producidos (Imagen 4).



Imagen 3. Vaciado del producto en las botellas



Imagen 4. Producto finalizado

Se elaboró un blanco con la misma materia pero sin el principio activo (propóleo)

Se evaluaron las propiedades organolépticas (Color, olor, apariencia) directamente de la botella del producto. Se realizo la medición del pH (a base de tiras reactivas), después de esto se cerraron los envases y se pasó a la prueba de estabilidad (en una cámara de estabilidad a 30°C a 60% de humedad relativa).

## Composición general de los productos elaborados.

Tabla 1.0  
Composición general de Jabón Líquido.

Componente	Porcentaje de contenido
Conservador	0.4%
Tensoactivo primario	18%
Tensoactivo secundario	4%
Humectante	1%
Propóleo	1 ó 3%
Codisolvente	1 ó 3%
Espesante	2.5%

Tabla 1.0 bis  
Composición general de shampoo.

Componente	Porcentaje de contenido
Tensoactivo primario	20%
Tensoactivo secundario	5%
Agente reológico	0.05%
Fragancia lavanda	0.8%
Propóleo	1 ó 3%
Conservador	0.01%
Codisolvente	1 ó 3%
Espesante	2%

## Resultados

A continuación presentamos los resultados obtenidos de la prueba de **Estabilidad Acelerada** reportando sólo las principales características visibles.

Tabla 1.1

*Evaluación de las características visibles de Jabón líquido con 1% de propóleo en el transcurso de los 3 meses de prueba.*

#Lote	Mes 0			Mes 1			Mes 2			Mes 3		
	Color	Fases	Aspecto									
Lote #1	Granate	1	Translúcido	Granate	2	Turbio	Granate	2	Turbio	Granate	2	Translúcido
Lote #2	Granate	1	Translúcido									
Lote #3	Granate	1	Translúcido									
Blanco	Incoloro	1	Translúcido									

En la tabla podemos observar que no hubo mucha variación de las características visibles del producto en comparación de estas desde el inicio hasta el final del tiempo de prueba, con excepción del lote 1 que presentó algunas variaciones.

Tabla 1.2

*Evaluación las características visibles de shampoo con 1% de propóleo en el transcurso de los 3 meses de prueba.*

	Mes 0			Mes 1			Mes 2			Mes 3		
#Lote	Color	Fases	Aspecto	Color	Fases	Aspecto	Color	Fases	Aspecto	Color	Fases	Aspecto
Lote #1	Ámbar	1	Translúcido	Ámbar	2	Turbio	Ámbar	2	Turbio	Ámbar	2	Translúcido
Lote #2	Café	1	Translúcido	Café	2	Turbio	Café	2	Turbio	Café	2	Turbio
Lote #3	Ámbar	1	Translúcido	Ámbar	1	Translúcido	Ámbar	1	Translúcido	Ámbar	1	Translúcido
Blanco	Incoloro	1	Translúcido	Incolo-ro	1	Translúcido	Incoloro	1	Translúcido	Incolo-ro	1	Translúcido

En la tabla se observó que las características visibles se mantuvieron muy semejantes entre los lotes a lo largo de la prueba a excepción del lote 1 y en algunos parámetros el lote 2.

Tanto el jabón líquido de 3% de propóleo como el shampoo con 3% de propóleo mantuvieron sus características visibles de principio a fin de la prueba siendo estas, un aspecto translúcido, con una sola fase uniforme y color granate y ámbar respectivamente.

## Gráficos de la Prueba de Estabilidad

En este gráfico podemos observar que el lote 1 en las evaluaciones 1, 2 y 3 está fuera de lo que sería deseado que presentara el producto siendo esto un defecto que se observa del lote 1.

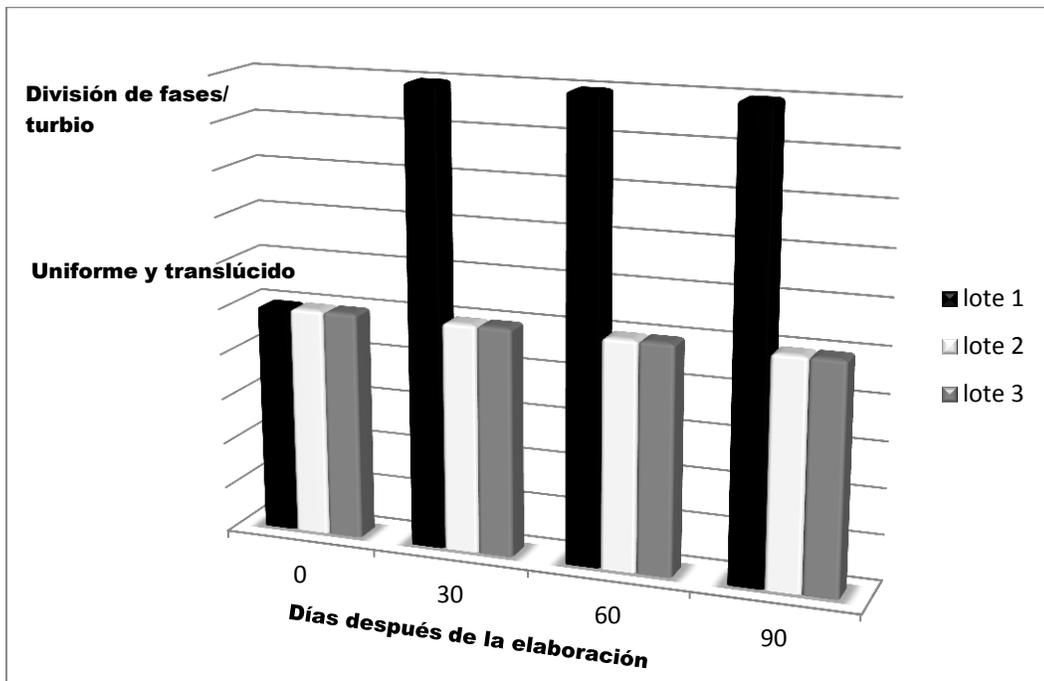
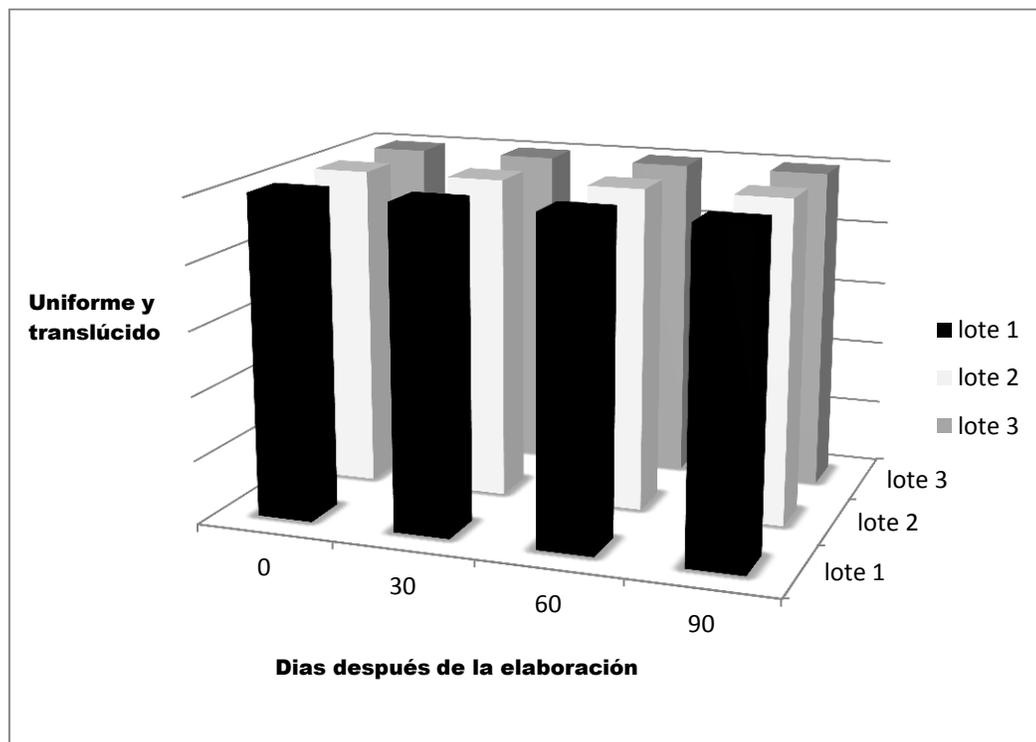


Gráfico 1.1. Resultados de las características visibles reportadas en jabón líquido con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a un 60% de humedad relativa y 32°C.

En este gráfico se observa que el producto en cuestión tiene una uniformidad en sus características visibles siendo en todos los lotes y en todas las evaluaciones uniforme y translúcido.



**Gráfico 1.2** Resultados de las características visibles registradas en jabón líquido con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a un 60% de humedad relativa y 32°C.

En el caso del shampoo se observaron diferencias en los lotes 1 y 2 presentando división de fases y aspecto turbio desde la evaluación número 2 en el mes 1 y manteniendo este aspecto persistentemente a lo largo de las evaluaciones.

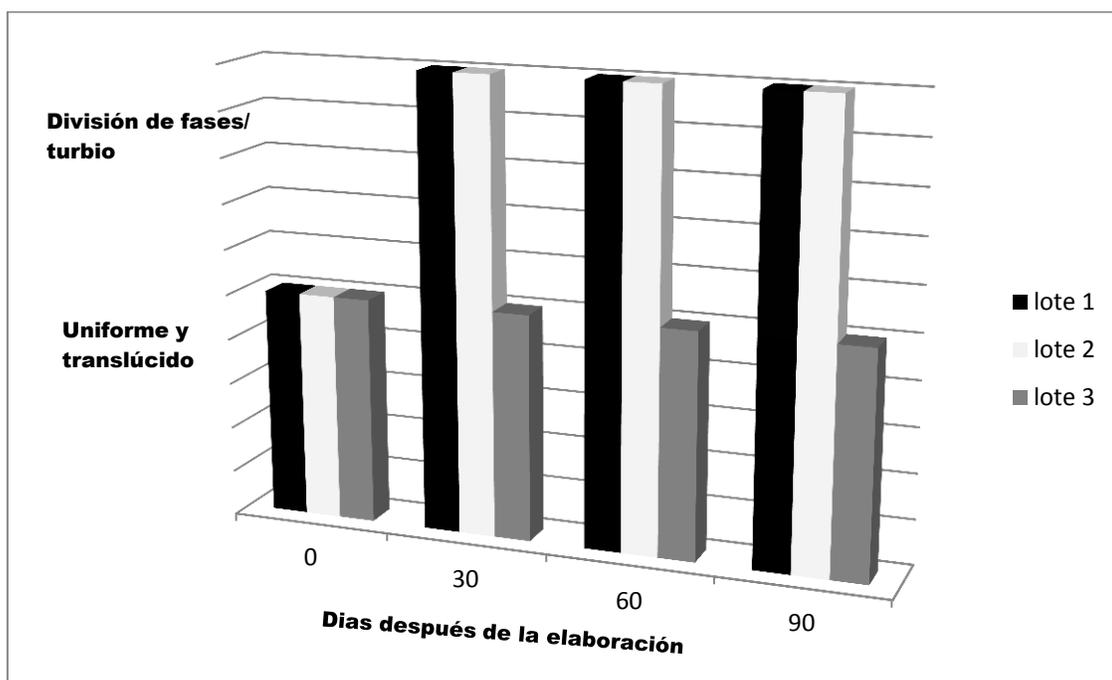
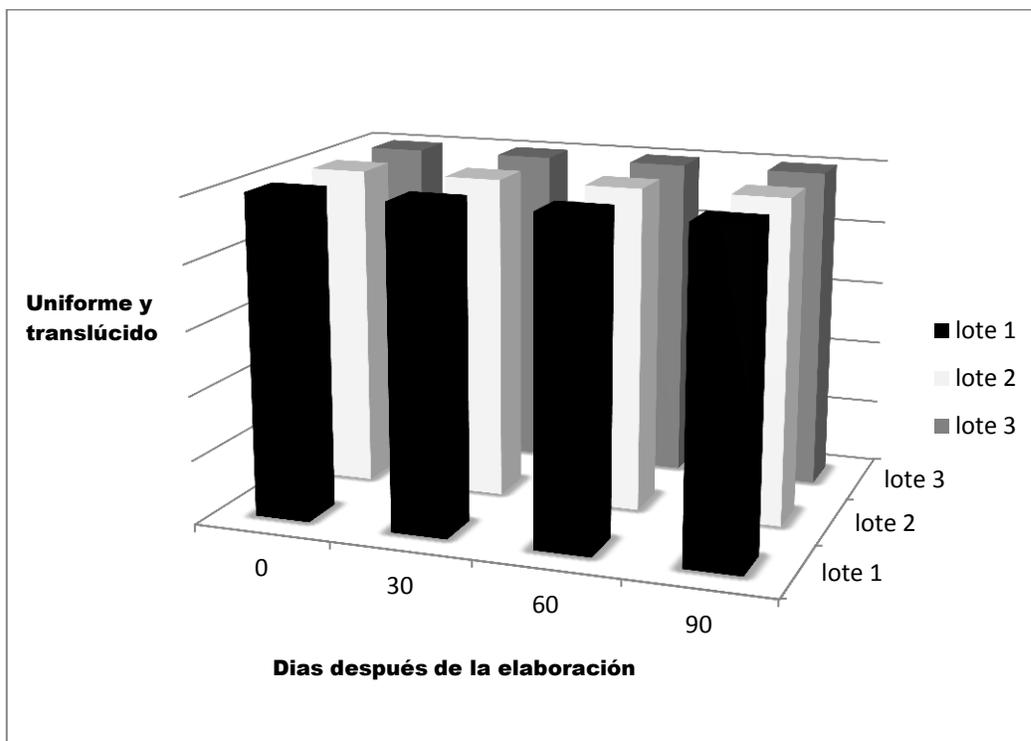


Gráfico1.3 Resultados de las características visibles registradas en shampoo con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a un 60% de humedad y 32°C.

En el gráfico muestra que los 3 lotes elaborados se mantuvieron con un aspecto uniforme y translúcido a lo largo del tiempo y en las evaluaciones realizadas se observó esta tendencia en los tres lotes, siendo estas cualidades favorables para nuestro producto.



**Gráfico 1.4** Resultados de las características visibles registradas en shampoo con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a un 60% de humedad y 32°C.

### Resultado obtenidos en la prueba de control microbiológico.

Los siguientes resultados obtenidos son de la prueba realizada para el control microbiológico aplicada a 3 lotes fabricados tanto de jabón líquido como de shampoo. Los resultados que se reportan fueron obtenidos de una resiembra en agar ALM y ASD de los caldos en los que si se presento crecimiento, incubando los medios a 30°C durante 4 días.

- **Jabón líquido**

Tabla 2.1 *Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a jabón líquido 1% de propóleo mantenido a temperatura ambiente (23°C aprox.).*

# Lote	Mesofilicos Aerobios	Hongos y Levaduras
Lote #1	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #2	0 UFC/mL de muestra	*75 UFC/mL de muestra
Lote #3	*67 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Blanco	Incontables	0 UFC/mL de muestra

En esta tabla se puede observar que en promedio el lote 3 presentó un número elevado de mesofilicos aerobios, mientras el lote 2 presentó un número de colonias un poco elevado también, esta es una observación se tuvo que seguir analizando con el tiempo para saber si era constante.

Tabla 2.2 *Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a jabón líquido 1% de propóleo mantenido a 60% de humedad y 32°C.*

# Lote	Mesofilicos Aerobios	Hongos y Levaduras
Lote #1	*66 UFC/mL de muestra	*7 UFC/mL de muestra
Lote #2	**76 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #3	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra

En esta tabla se observó la presencia de mesofilicos aerobios en dos de los tres lotes y poca presencia de hongos y levaduras, estos datos son obtenidos de las muestras que fueron sometidas a la estabilidad acelerada.

Tabla 2.3. Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a jabón líquido 3% de propóleo mantenido a temperatura ambiente (23°C aprox.).

# Lote	Mesofilicos Aerobios	Hongos y Levaduras
Lote #1	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #2	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #3	*54 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra

En esta tabla se puede observar que sólo hubo crecimiento en el lote 3 de mesofilicos aerobios siendo representado este número por el promedio de los datos obtenidos.

Tabla 2.4. Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a jabón líquido 3% de propóleo mantenido a 60% de humedad y 32°C.

# Lote	Mesofilicos Aerobios	Hongos y Levaduras
Lote #1	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #2	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #3	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra

La tabla nos muestra que no existió crecimiento en promedio en ninguno de los lotes de este producto siendo este el que fue mantenido en la cámara de estabilidad durante el tiempo de prueba.

\*Colonias mayoritariamente encontradas en el mes 2 después de la elaboración.

\*\*Colonias mayoritariamente encontradas en el mes 1 después de la elaboración.

- **Shampoo**

Tabla 2.5 *Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a shampoo 1% de propóleo mantenido a temperatura ambiente (23°C aprox.).*

# Lote	Mesofilicos Aerobios	Hongos y Levaduras
Lote #1	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #2	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #3	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Blanco	Incontables	7 UFC/mL de muestra

En la tabla se muestran los resultados del producto mantenido a temperatura ambiente, los datos son promedio de las observaciones hechas en un periodo de 3 meses mostrando una diferencia del producto sin propóleo con el producto que si lo tiene.

Tabla 2.6. *Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a shampoo 1% de propóleo mantenido a 60% de humedad y 32°C.*

# Lote	Mesofilicos Aerobios	Hongos y Levaduras
Lote #1	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #2	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #3	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra

En esta tabla se puede ver que no hubo diferencia significativa en los promedios registrados de los lotes de prueba a lo largo del tiempo, estos lotes fueron sometidos a la cámara de estabilidad.

Tabla 2.7. *Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a shampoo 3% de propóleo mantenido a temperatura ambiente (23°C aprox.).*

# Lote	Mesofilicos Aerobios	Hongos y Levaduras
Lote #1	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #2	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra
Lote #3	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra

La tabla muestra que no hubo diferencia de los promedios entre los diferentes lotes a lo largo de la prueba tanto en mesofilicos aerobios como en hongos y levaduras, no presentando ninguno de los dos en las muestras.

Tabla 2.8. *Resultados obtenidos en el control microbiológico realizado a shampoo 3% de propóleo mantenido a 60% de humedad y 32°C.*

# Lote	Mesofilicos Aerobios	Hongos y Levaduras
Lote #1	*Incontables	0 UFC/mL de muestra
Lote #2	0 UFC/mL de muestra	*54 UFC/mL de muestra
Lote #3	0 UFC/mL de muestra	0 UFC/mL de muestra

En esta tabla se puede ver que el lote 1 tiene una gran diferencia con los otros lotes en presencia de mesofilicos aerobios, mientras que el lote 2 tiene una cantidad considerable de colonias de hongos y levaduras.

\*Colonias mayoritariamente encontradas en el mes 2 después de la elaboración.

## Gráficos de la Prueba de Control microbiológico (Gráfico de control C)

El siguiente gráfico muestra en general que ningún punto cae fuera dentro de los límites de control siendo el primer punto muy cercano al límite inferior, no se muestra una tendencia en la corrida, por lo tanto podemos decir que el proceso está bajo control.

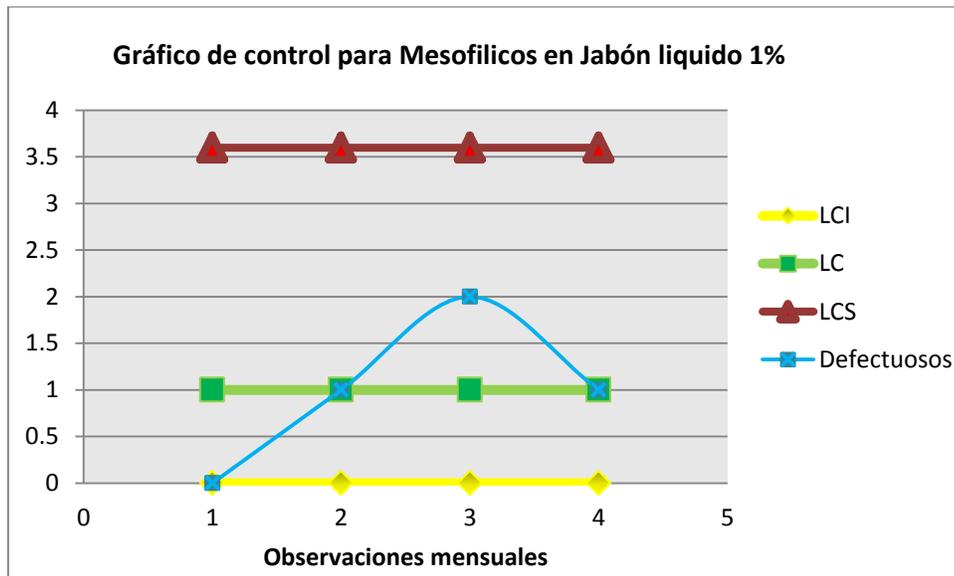
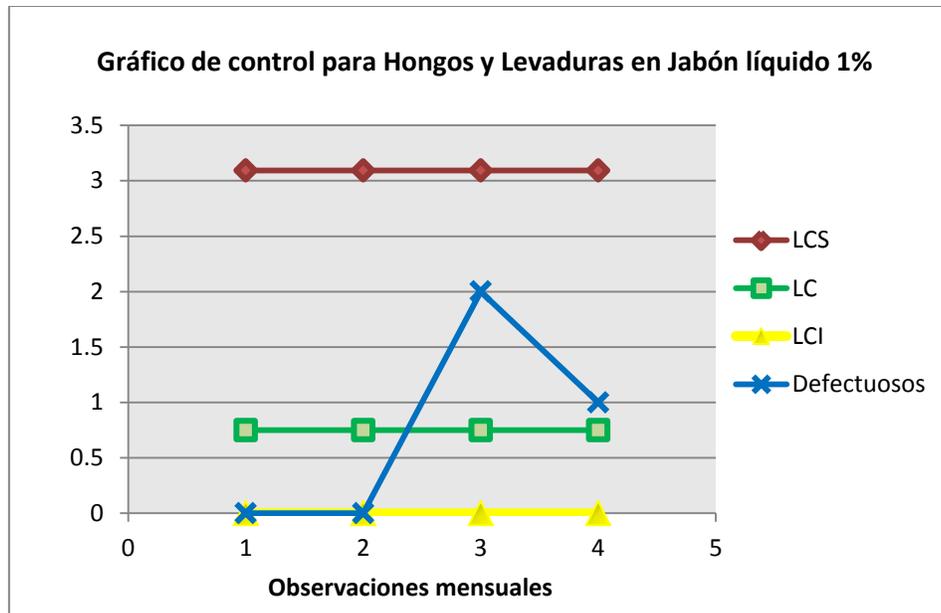


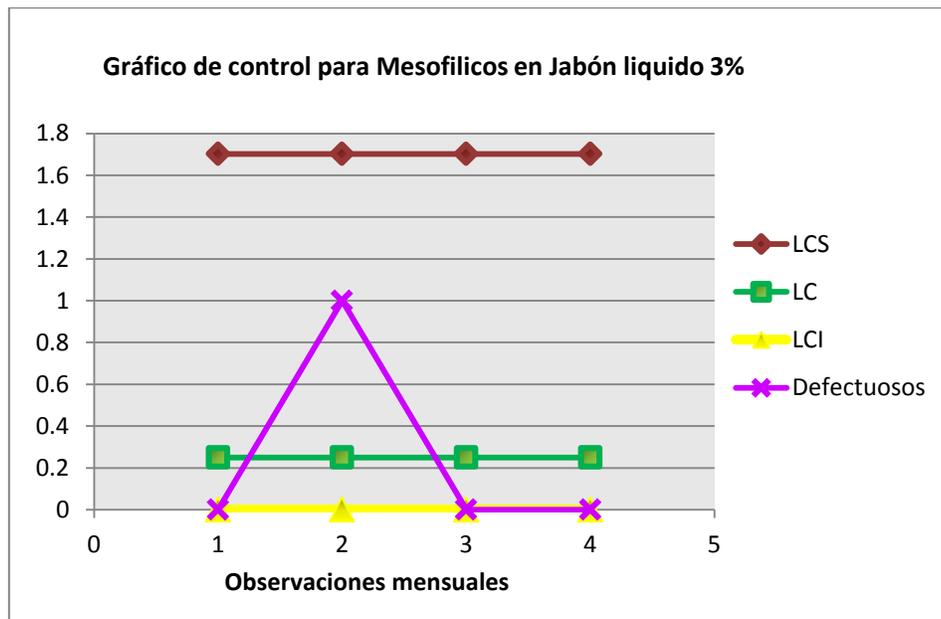
Gráfico 2.1.1 Resultados de la prueba de control microbiológico de jabón líquido con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad.

En este gráfico podemos observar que al inicio de la corrida hay dos puntos muy cercanos al límite de control inferior por lo que puede ser evidencia de que el proceso puede salir de control o de cambios en la distribución del mismo, durante el tiempo en que sucedió el patrón o la tendencia, sin embargo no salen de los límites de control por lo que el proceso aun se mantiene bajo control.



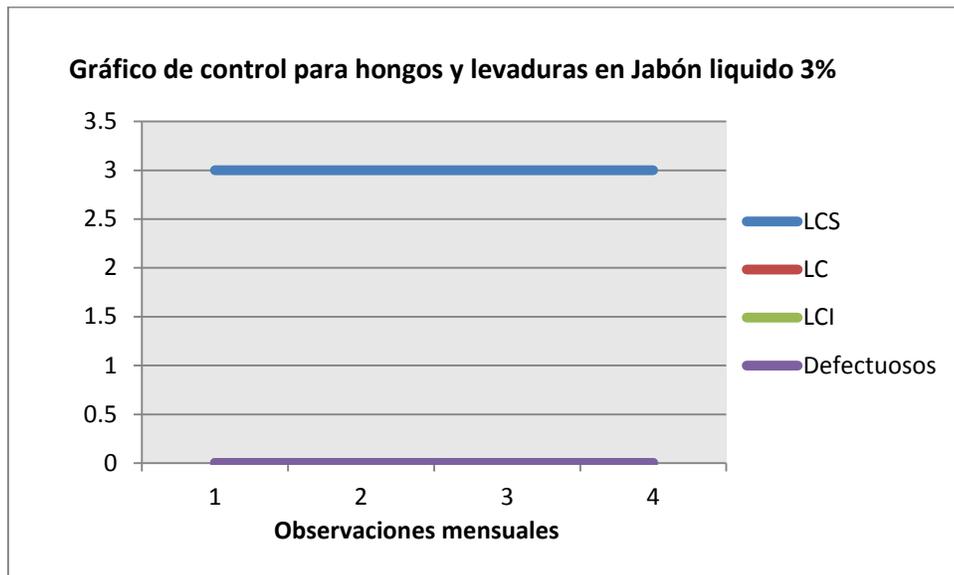
**Gráfico 2.1.2 Resultados de la prueba de control microbiológico de jabón líquido con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad.**

En este gráfico se observa algo muy semejante al anterior mencionado por lo que el proceso muestra una tendencia en las últimas dos observaciones mensuales estando muy cerca del límite de control inferior haciendo correr el riesgo de que el proceso salga de control aunque por no salir y solo ser una tendencia de la corrida no se puede tomar como un proceso fuera de control.



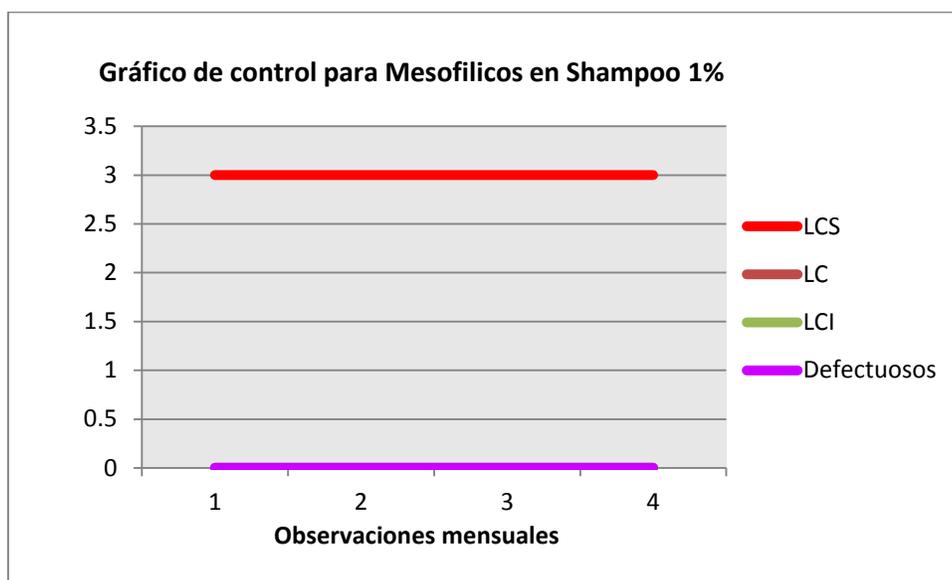
**Gráfico 2.2.1 Resultados de la prueba de control microbiológico de jabón líquido con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.**

El siguiente gráfico muestra que ninguno de los valores del rango queda fuera de los límites de control de rango por lo que podríamos decir que está en un estado de control el proceso aunque estadísticamente no existe el “estado perfecto de control”, por lo que sólo decimos que se encuentra bajo control.



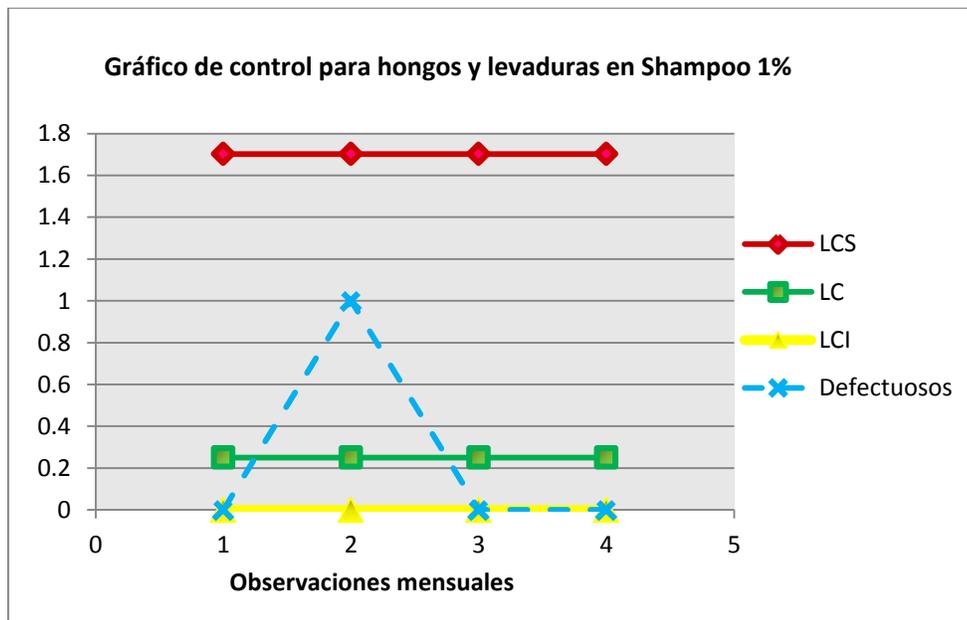
**Gráfico2.2.2 Resultados de la prueba de control microbiológico de jabón líquido con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.**

En el siguiente gráfico se muestra de la misma forma que ninguno de los valores del rango queda fuera de los límites de control de rango, por lo que podemos asumir que el proceso está estadísticamente bajo control.



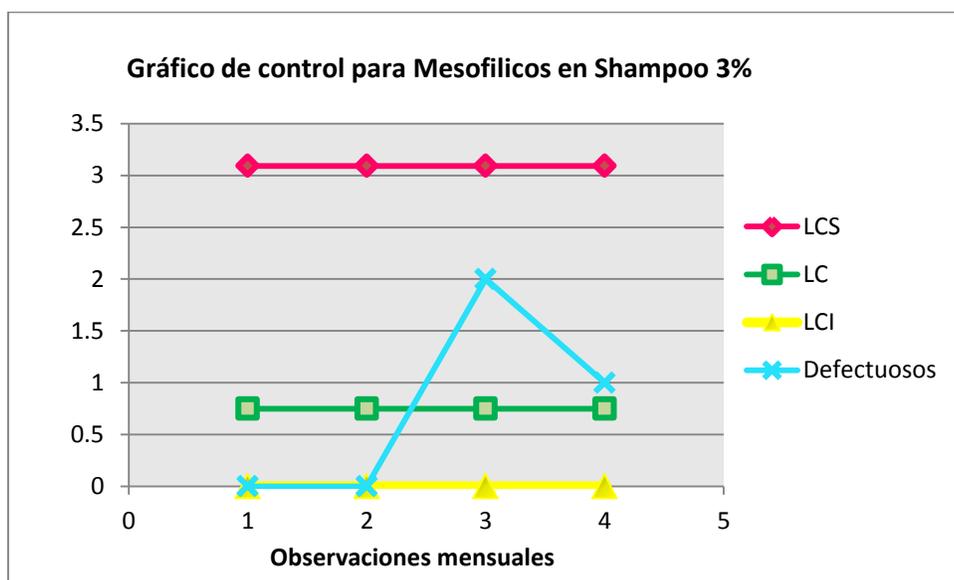
**Gráfico 2.3.1 Resultados de la prueba de control microbiológico de shampoo con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.**

En este gráfico al igual que uno ya mencionado se nota una tendencia en la corrida a caer en el límite de control inferior siendo un riesgo para el proceso a estar fuera de control, sin embargo por solo ser una tendencia que no paso los limites de control no podemos asegurar que el proceso este fuera de control.



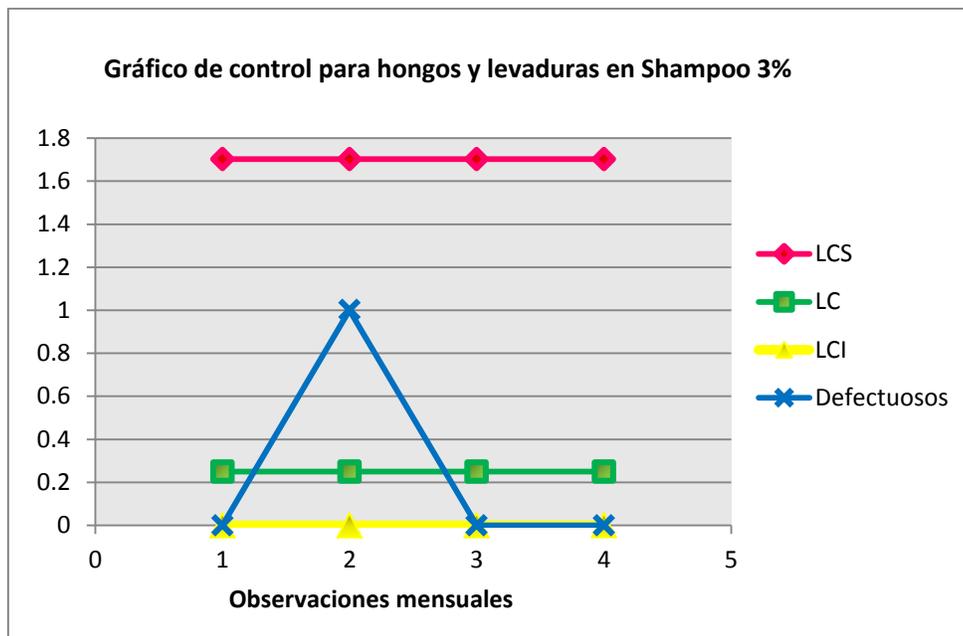
**Gráfico 2.3.2 Resultados de la prueba de control microbiológico de shampoo con 1% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.**

En este gráfico se observan al inicio de las evaluaciones mensuales dos datos muy cercanos al límite de control inferior mostrando la tendencia inicial de la corrida aunque no salen del límite de control por lo que podemos pensar que el proceso aun en ese punto está bajo control.



**Gráfico 2.4.1 Resultados de la prueba de control microbiológico de shampoo con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.**

En el gráfico se observan dos puntos de las evaluaciones del mes dos y el mes tres que caen muy cercanos al límite de control inferior que como ya se menciono antes solo muestra la tendencia de la corrida en ese punto pero por no salir de los limites, significa que el proceso aun está bajo control.



**Gráfico 2.4.2 Resultados de la prueba de control microbiológico de shampoo con 3% de propóleo en un lapso de tres meses sometido a 32°C y 60% de humedad relativa.**

## Resultado obtenidos en la prueba de actividad antimicrobiana.

La tercera prueba realizada para el control de calidad de los productos elaborados fue la prueba de actividad antimicrobiana de la cual a continuación reportaremos los resultados obtenidos en un periodo de tiempo de 3 meses, reportando sólo el promedio de las evaluaciones mensuales realizadas.

- **Jabón líquido**

Tabla 3.1. Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en jabón líquido con 1% de propóleo contra *Staphylococcus aureus*.

Condiciones	Porcentaje de inhibición		
	Mes 0	Mes 1	Mes 3
Temperatura ambiente (23°C aprox.).	99.9%	99.9%	99.9%
60% humedad 32°C	---	99.9%	99.9%
Blanco	99.9%	99.9%	91.4%

En la tabla se puede observar que a lo largo del tiempo el porcentaje de inhibición permanece muy similar en todas las evaluaciones.

Tabla 3.2. Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en jabón líquido con 3% de propóleo contra *Staphylococcus aureus*.

Condiciones	Porcentaje de inhibición		
	Mes 0	Mes 1	Mes 3
Temperatura ambiente (23°C aprox.).	99.9%	99.9%	99.9%
60% humedad 32°C	---	99.5%	99.9%

En esta tabla se puede observar que no existe una gran variación en los porcentajes promedio de los lotes en ambas condiciones se mantienen en un margen de diferencia muy corto.

- **Shampoo**

Tabla 3.3. Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en shampoo con 1% de propóleo contra *Staphylococcus aureus*.

Condiciones	Porcentaje de inhibición		
	Mes 0	Mes 1	Mes 3
Temperatura ambiente (23°C aprox.).	99.9%	99.5%	99.9%
60% humedad 32°C	---	99.98%	99.9%
Blanco	99.9%	99.19%	94.28%

En la tabla anterior se muestran los porcentajes de inhibición contra el patógeno de prueba siendo estos muy parecidos.

Tabla 3.4. Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en shampoo con 3% de propóleo contra *Staphylococcus aureus*.

Condiciones	Porcentaje de inhibición		
	Mes 0	Mes 1	Mes 3
Temperatura ambiente (23°C aprox.).	99.9%	94.18%	99.9%
60% humedad 32°C	---	99.9%	74.28%

En la tabla se puede observar que los porcentajes de inhibición varían en las muestras procesadas que fueron sometidas a la cámara de estabilidad siendo esta variación un poco significativa con respecto a los porcentajes anteriormente reportados de los otros productos.

- **Jabón líquido**

Tabla 4.1. Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en jabón líquido con propóleo contra *Escherichia coli*.

Condiciones	Porcentaje de inhibición		
	1% de propóleo	3% de propóleo	Blanco
Temperatura ambiente (23°C aprox.).	99.99%	99.99%	95.91%
60% humedad 32°C	99.89%	99.98%	--

En la tabla anterior se muestran los porcentajes de inhibición contra el patógeno del cual sólo se realizó una evaluación, mostrando porcentajes favorables de inhibición.

- **Shampoo**

Tabla 4.2. Resultados obtenidos en la prueba de efectividad antimicrobiana en shampoo con propóleo contra *Escherichia coli*.

Condiciones	Porcentaje de inhibición		
	1% de propóleo	3% de propóleo	Blanco
Temperatura ambiente (23°C aprox.).	99.99%	99.99%	86.31%
60% humedad 32°C	98.49%	96.99%	--

En la tabla se muestran los resultados obtenidos de la única evaluación realizada con el producto para la eficacia contra *E.coli*, siendo los resultados buenos para el uso de nuestro producto.

## Gráficos de la Prueba de Actividad antimicrobiana

Patógeno: *Staphylococcus aureus*

En este gráfico se muestran las evaluaciones mensuales y el porcentaje de inhibición, en el caso del jabón líquido con 1% de propóleo se observó que en casi todas las evaluaciones mensuales tuvo un porcentaje mayor a 90%.

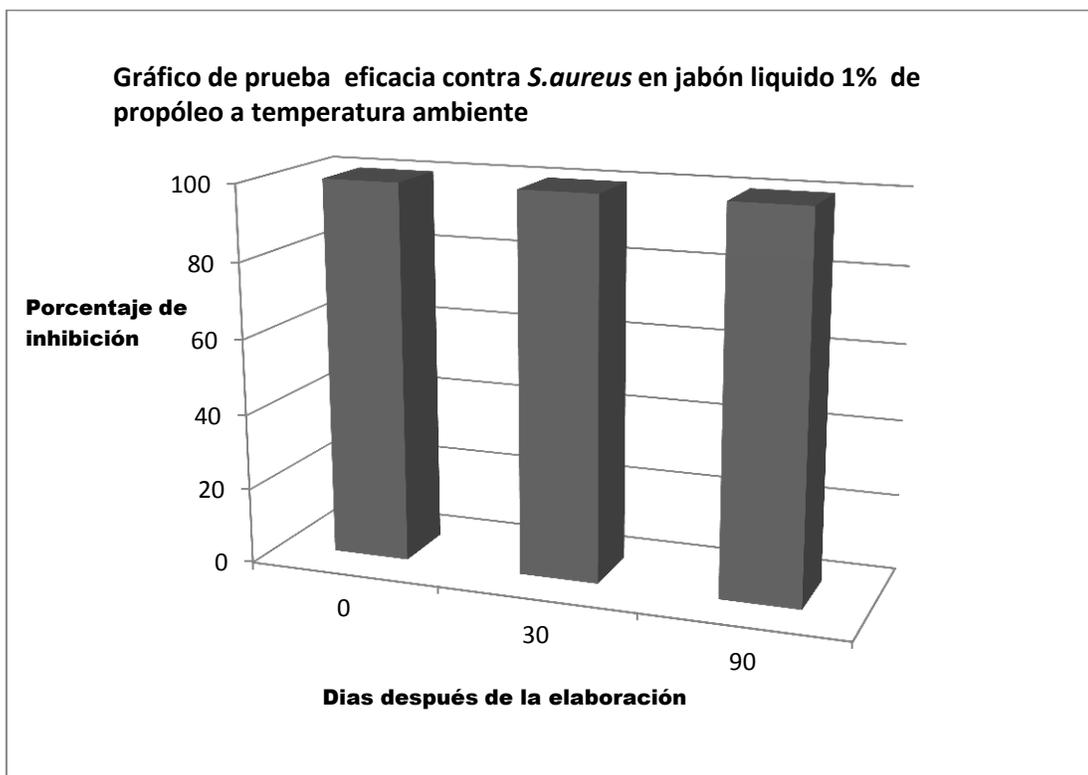
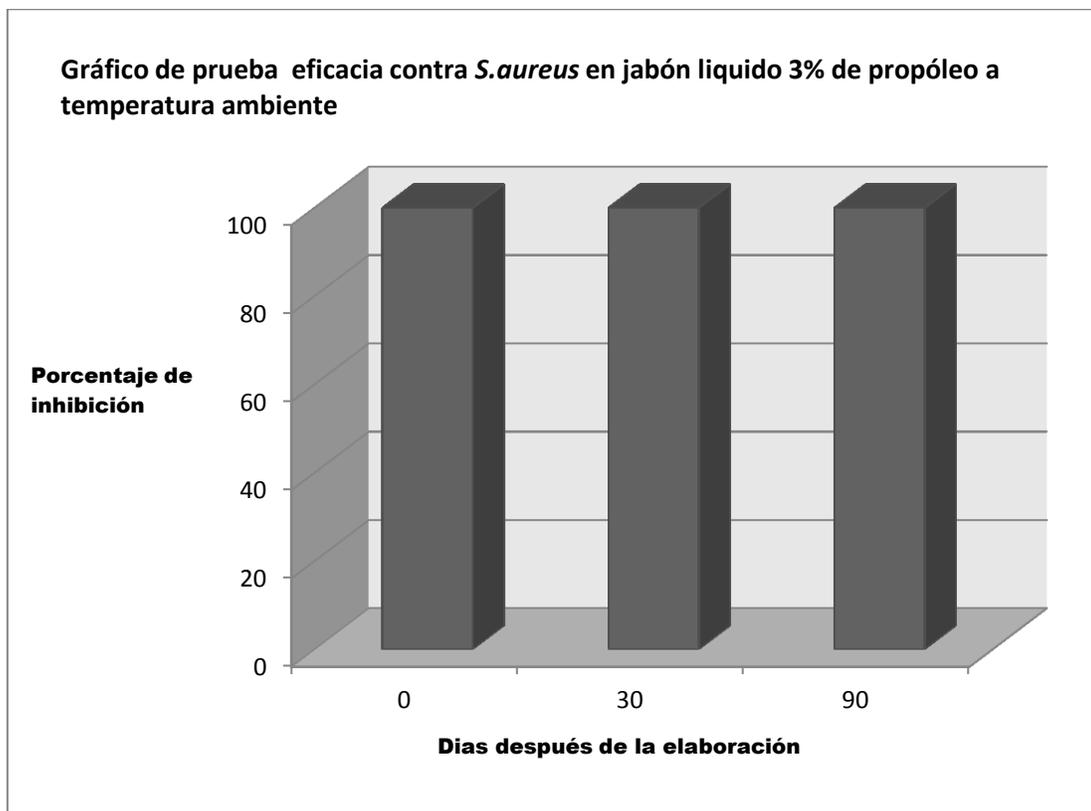


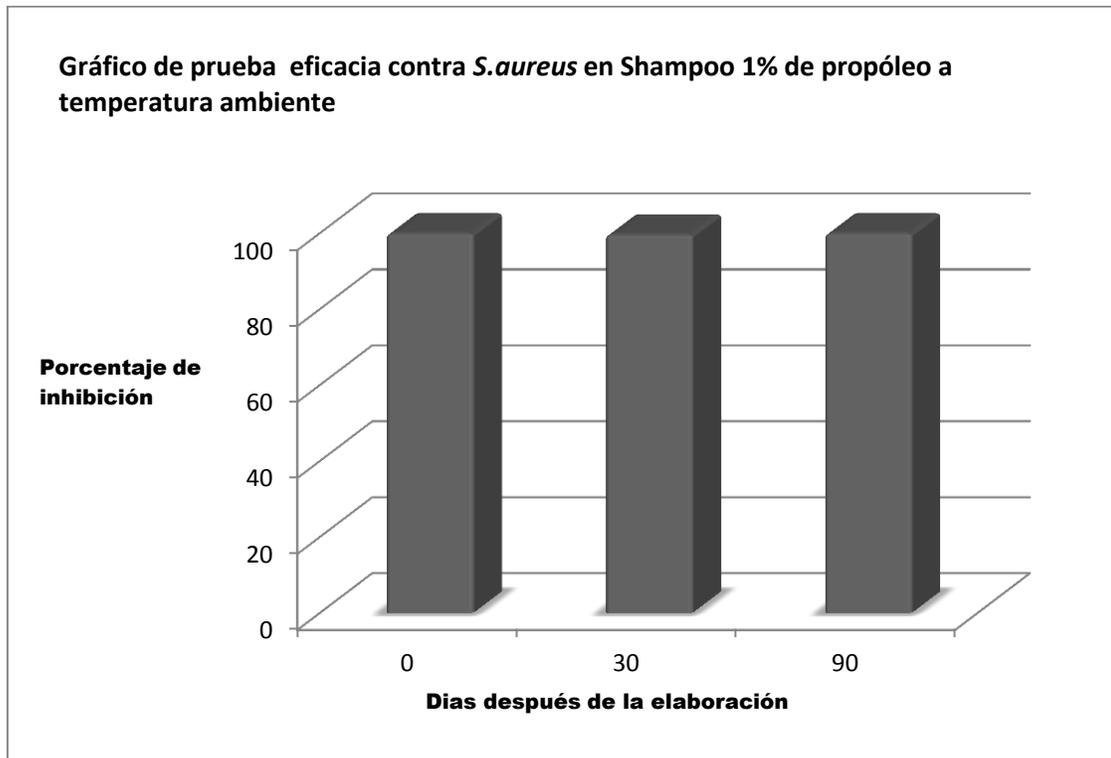
Gráfico 3.1 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en jabón líquido 1% en un lapso de tres meses a temperatura ambiente.

En este gráfico se observa que en las evaluaciones mensuales se obtuvo un porcentaje alto de inhibición contra el patógeno de prueba, además se puede observar que no existe una gran variación entre los resultados de las evaluaciones realizadas.



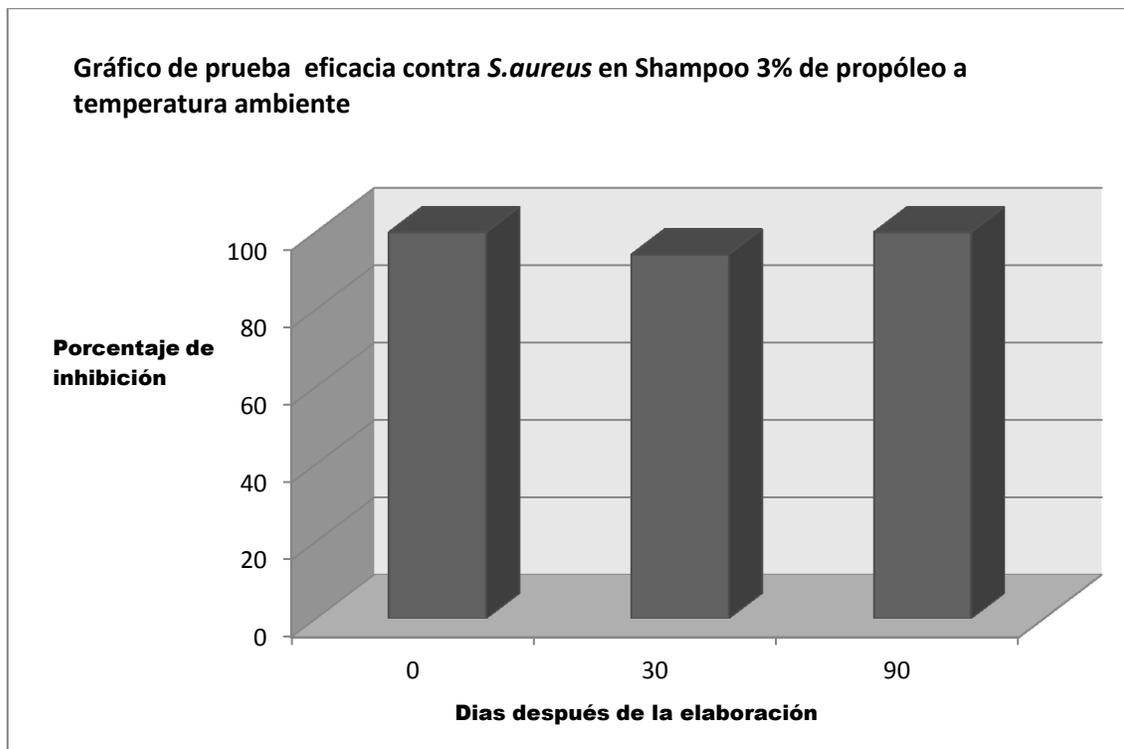
**Gráfico 3.2 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en jabón líquido 3% en un lapso de tres meses en temperatura ambiente.**

En el siguiente gráfico se ven los porcentajes de inhibición con respecto al tiempo transcurrido, datos obtenidos a lo largo de 3 meses con evaluaciones mensuales en las cuales podemos observar que el porcentaje de inhibición en la mayoría de los casos se mantuvo por arriba del 90%.



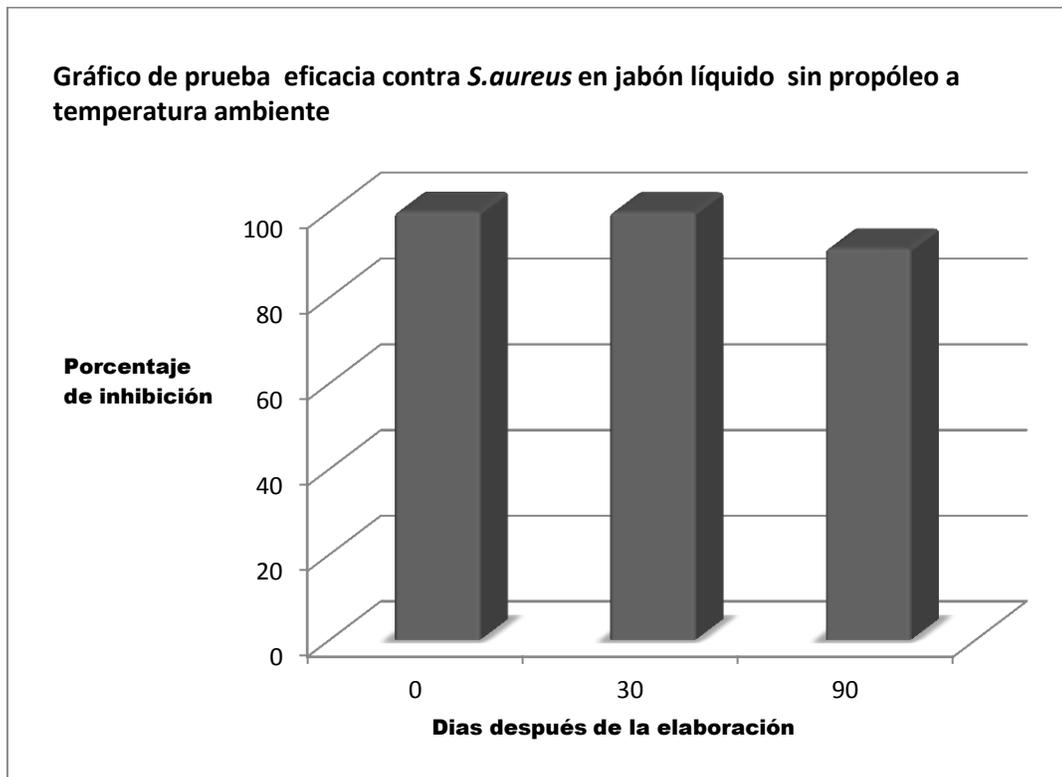
**Gráfico 3.3 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en shampoo 1% en un lapso de tres meses en temperatura ambiente.**

En este caso, el gráfico muestra algunas diferencias en el porcentaje de inhibición, ya que en la evaluación número dos se observa una ligera disminución, sin embargo no es significativa.



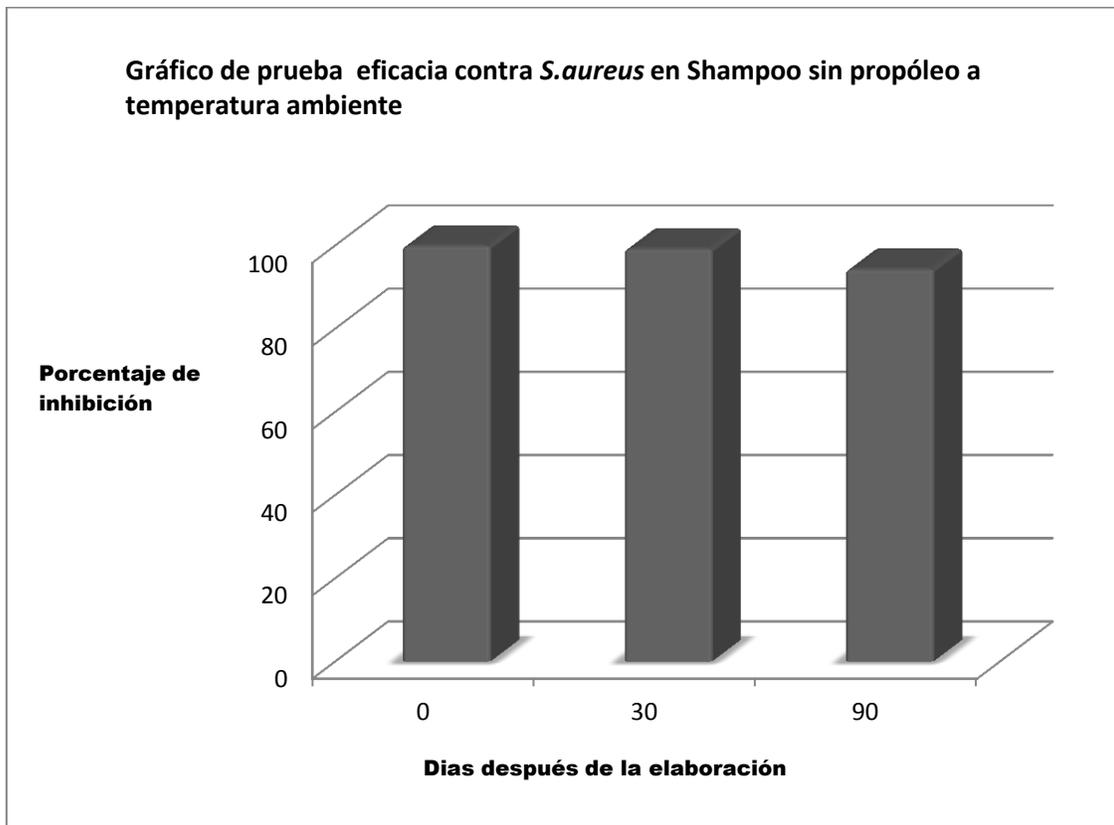
**Gráfico 3.4 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en shampoo 3% en un lapso de tres meses en temperatura ambiente.**

El siguiente gráfico muestra la eficacia de un jabón que no contenía propóleo contra el patógeno de prueba observándose que la inhibición que presento en el mes tres la evaluación fue baja siendo esta de 91.4%.



**Gráfico 3.5 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en Jabón líquido sin propóleo en un lapso de tres meses en condiciones de temperatura ambiente.**

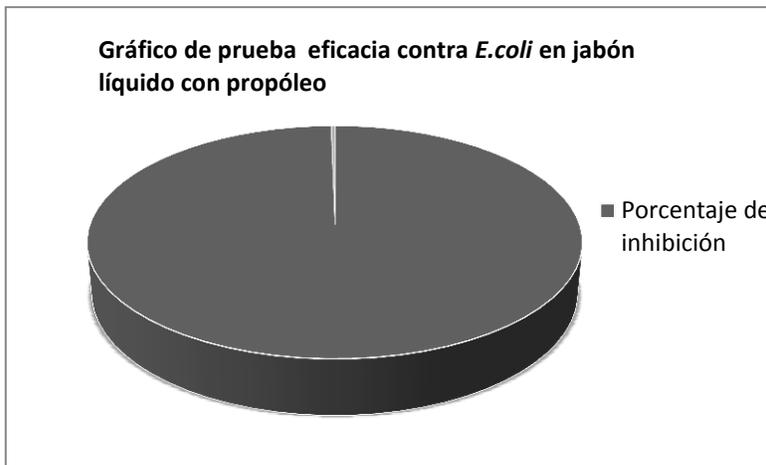
En el gráfico se muestra la eficacia del shampoo sin propóleo en base a las evaluaciones mensuales, en el que podemos apreciar que el porcentaje de inhibición va decreciendo llegando en el mes tres a un porcentaje de inhibición de 94.26%.



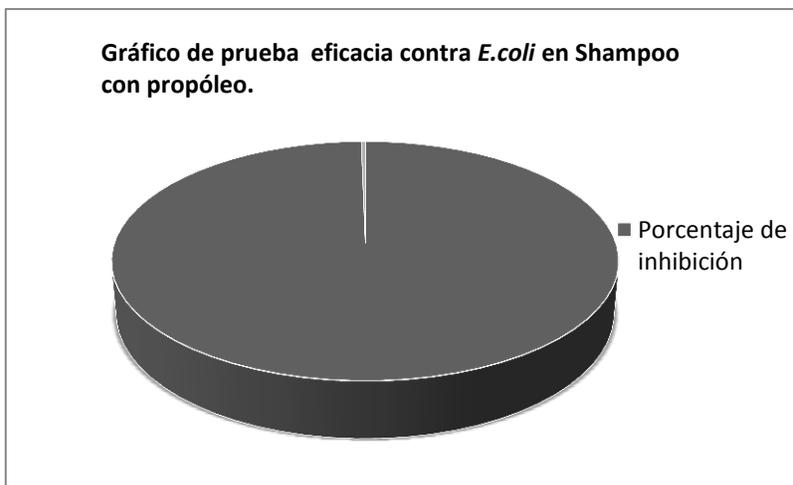
**Gráfico 3.6 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en shampoo sin propóleo en un lapso de tres meses en condiciones de temperatura ambiente.**

**Patógeno: *Escherichia coli***

El porcentaje de inhibición en la gran mayoría de los lotes tanto de shampoo como de jabón líquido fue de un 99.9%, y debido a problemas con la cepa sólo se realizó la evaluación una vez.



**Gráfico 4.1 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en jabón líquido con propóleo en un lapso de tres meses.**



**Gráfico 4.2 Resultados de la prueba de actividad antimicrobiana en shampoo con propóleo en un lapso de tres meses.**

## Discusión

Al revisar los resultados obtenidos de la prueba de estabilidad observamos que algunos de los lotes del shampoo (lote 1 y 2) no mantuvieron algunas de las características visibles importantes para demostrar que la formulación era estable (Gráfico 1.3). Podemos suponer que la causa de esto fue debido a alguno de los componentes de la formulación que al interactuar con el propóleo u otro compuesto del producto se volvió insoluble y esto causó la apariencia turbia en los lotes mencionados.

En cuanto al jabón líquido solo el lote 1 con 1 % presentó características visibles no deseables (división de fases y turbidez) a partir del mes 1 después de su elaboración (Gráfico 1.1) esto debido a que se realizó mediante un proceso diferente a los otros 2 lotes fabricados.

De acuerdo a los resultados obtenidos todos los lotes de shampoo y jabón líquido con 3% de propóleo mantuvieron constantes las características visibles desde su fabricación (uniforme y translúcido) hasta la última evaluación realizada (Gráfico 1.2 y 1.4). Sin embargo en ambos casos el propóleo se sedimentó, debido tal vez a que la consistencia del propóleo es resinosa y además la cantidad usada en esta formulación es mayor a la usada en los productos con 1% de propóleo.

El control de calidad se realizó utilizando medios específicos que determinaron la presencia de bacterias (CLM) y hongos (CDS). (Ver Anexo 4)

Para determinar prueba de actividad bactericida y determinación del contenido microbiano en productos fabricados a base de propóleo se usó el caldo Letheen Modificado (CLM). Esta prueba se basa en el uso de la peptona y el extracto de carne que proporcionan los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos. La lecitina de soya neutraliza los compuestos cuaternarios de amonio. El polisorbato 80 neutraliza desinfectantes fenólicos, formol y junto con la lecitina el etanol. (Ver Anexo 4)

La interpretación se basó en que si se observaba crecimiento en los tubos problema había una posibilidad de inhibición del efecto bactericida y probable contaminación.

Mientras que el CDS fue usado para determinar la presencia o ausencia de hongos y levaduras en donde las peptonas son fuentes de factores de crecimiento nitrogenado y la dextrosa proporciona una fuente de energía para el crecimiento de microorganismos. (Ver Anexo 4)

En los resultados para el control de calidad microbiológicos, los gráficos demostraron que tanto el jabón líquido (Gráfico del 2.1.1 al 2.2.2), como el shampoo (Gráfico del 2.3.1 al 2.4.2), se mantuvieron dentro de los límites de control durante la prueba.

En los resultados obtenidos de la prueba de actividad antimicrobiana se demostró la propiedad del propóleo para eliminar microorganismos como *E.coli* y *Staphylococcus aureus*, ya que en la mayoría de los lotes de shampoo y jabón líquido se mostro una inhibición del 99.9%. (Gráficos del 3.1 al 4.2).

La actividad antimicrobiana del propóleo se atribuye principalmente a los flavonoides: acacetina, apigenina, crisina, galangina, kaempferol, naringenina, pinobanksina, pinocembrina y quercetina. (16)

En específico la acción antimicrobiana ejercida sobre *E.coli* (solo observada en el mes tres de la evaluación) se logro con una concentración de propóleo relativamente baja (1%) aunque la literatura nos muestra que el efecto del propóleo contra *E. coli* requería de concentraciones más altas para obtener un efecto (extracto de propóleo al 1.2 y 5%). (16)

El mecanismo por el cual nuestro producto actúa suponemos que es por la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos y degradación de la membrana citoplasmática (Cushnie y Lamb, 2005), aunque existen muchos mecanismos posibles por los cuales se puede lograr este efecto. Se realizo un ANOVA para comprobar que el efecto bactericida se debía al propóleo y no a los demás componentes de la formulación mostrando los resultados de este análisis que la diferencia entre las medias no era significativa, sin embargo porque los resultados mostraban que los porcentajes de inhibición del blanco eran más bajos, realizamos una prueba estadística más utilizando una t de student que demostró que si hay una diferencia significativa entre los productos con propóleo y los que no lo tienen, siendo esto la prueba de que el efecto antimicrobiano mayor es debido al propóleo. (Anexo3)

## Conclusiones

- Se demostró uno más de los múltiples usos que se le pueden dar al propóleo con la elaboración de shampoo y jabón líquido realizados de dos formulaciones que se basaron en pruebas de solubilidad del propóleo, así mismo se demostró que ambos productos tienen la capacidad de eliminar microorganismos patógenos comunes en enfermedades del sector veterinario.
- Se fabricaron shampoo y jabón líquido en base a estándares establecidos en las normas anteriormente mencionadas (NOM-073-SSA1-2005, NOM-089-SSA1-1994, y NMX-BB-040-SCFI-1999), probando de esta forma el cumplimiento de la mayoría de los parámetros requeridos para asegurar la calidad de estos productos.
- Se observaron las características visibles de ambos productos en la prueba de estabilidad acelerada aunque debido a las propiedades físicas del propóleo algunos de los lotes no se mostraron tan estables a lo largo del tiempo en las condiciones establecidas en la prueba.
- Se demostró en la prueba de actividad antimicrobiana obteniendo un 99.99% de inhibición bacteriana en la mayoría de los lotes, los productos fabricados fueron efectivos a lo largo del periodo de prueba.
- El control microbiológico realizado nos mostro que la mayoría de los lotes se mantenía en un rango aceptable, asegurando así otro parámetro que garantiza la calidad de ambos productos.

## Perspectivas

El propóleo por sus múltiples propiedades puede ser utilizado de diversas formas, aunque nuestro trabajo se centró en su uso en piel y pelo del sector veterinario se puede llegar a implementar una nueva formulación para uso humano tomando en consideración que en las pruebas posteriores a realizar se deben contemplar las interacciones e interferencias de los componentes en la acción antimicrobiana.

Aunque este estudio fue realizado solo con pruebas in vitro, si se realizarán estudios posteriores se podría aplicar pruebas in vivo para demostrar la capacidad antimicrobiana.

## Bibliografía

1. Abud, Leda, (2004), "*El libro de jabones*", Albatros, Buenos Aires, pag. 6
2. Abud, Leda, (2004), "*Todo sobre jabones*", 2ª ed. Albatros, Buenos Aires, pag. 4  
Artículos:
3. Badia, María Amparo, et al. (2011), "*Cosmética para peluquería*", Paraninfo, pag. 99-102
4. Bosch, Ma José Meléndez, et al. (2010), "*Hágase sus propios cosméticos*", Paidotribo, Badalona, España, pag. 50
5. Campo Fernández Mercedes, 2007, "*Estudio Químico de propóleos rojos cubanos*" Universidad de la Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos, ciudad de la habana, 2007. Pag. 9-17
6. Carrillo Troya Concepción, Talaverano Fuentes Ana Belén, Fernández Canales Yolanda, (2008), "*Higiene y Esterilización en los salones de peluquería*", 3ª ed., Paraninfo, España, pag. 81
7. Catvitch, Susan Miller (2003), "*Guía práctica para hacer jabón*", Paidotribo, Barcelona, España, pag. 73
8. Chávez Almache Juan Gabriel, 2013, "*Elaboración de Shampoo de romero (rosmarinum officinalis) con actividad anti Malassezia globosa a escala piloto*", Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Ribomba, Ecuador, pag. 6
9. Failor, Catherine (2001), "*Jabones Líquidos*", Paidotribo, Barcelona, España, pp. 8, 9, 19, 20, 22
10. Félix Adanero Jorge, 2011, "*Caracterización de propolis de Castilla y León: estudio palinológico y de compuestos de interés funcional*", Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León. Ambiociencias – Revista de divulgación científica pag. 2.
11. Goleman, Daniel (2009), "*Inteligencia ecológica*", Kairos, Barcelona, España, pag. 202

12. Hyun Koo, Pedro L. Rosalen, Jaime A. Cury, Yong K. Park, and William H. Bowen, 2002, "Effects of Compounds Found in Propolis on *Streptococcus mutans* Growth and on Glucosyltransferase Activity" *Antimicrobial agents and chemotherapy*, p. 1302–1309.
13. Salamanca Grosso Guillermo, Correa Carvajal Ivonne L. y Principal Judith, 2007, "Perfil de flavonoides e índices de oxidación de algunos propóleos colombianos", Tesis
14. Tinoco Cabriales VC, Quesada Castillo JA, Maldonado Ramírez MA, Oliver Parra R, Luna Gojon BA, 2013, "Muerte leucocitaria por toxicidad del propóleo" *Revista Odontológica Mexicana* Vol. 17, Núm. 3 pp 161-165
15. Tolosa I., Cañizares E. 2007, Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche", *Rev. Iberoamericana Micología*, pag. 123,
16. Vargas-Sánchez et al., 2013, "Mecanismos involucrados en la actividad antioxidante y antibacteriana del propóleos", *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, Volumen XVI, Número 1  
Zootecnia Tropical. v.25 n.2 Maracay

Páginas web:

17. (19-06-14)  
<http://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm378522.htm#what>
18. (29-09-14) [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1135-57271997000500002](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57271997000500002)
19. (29-09-14) [http://www.who.int/drugresistance/AMR\\_Importance/es/](http://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/es/)
20. (13-09-13) [http://www.elperiodicodearagon.com/noticias/aragon/inspeccion-alerta-sobre-champu-para-caballos\\_741202.htmL](http://www.elperiodicodearagon.com/noticias/aragon/inspeccion-alerta-sobre-champu-para-caballos_741202.htmL)
21. (02-08-14) <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/2455/Articulos-archivo/Terapia-antimicrobiana-topica-I.html>
22. (29-09-14) <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v25n4/v25n4a18.pdf>
23. (29-09-14) [http://www.ecured.cu/index.php/Staphylococcus\\_en\\_animales](http://www.ecured.cu/index.php/Staphylococcus_en_animales)

24. (27-07-14)  
<http://www.consumer.es/web/es/mascotas/perros/salud/higiene/2013/04/09/216370.php>
25. (02-08-14) <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2014/rmd142e.pdf>
26. (29-09-14) <http://es.scribd.com/doc/6389472/Escherichia-Coli-causante-de-enfermedades-en-animales-domesticos>
27. (14-09-13) <http://personalcosmetology.blogspot.es/>
28. (08-01-14) <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Programas/Documents/noti1005.pdf>
29. (08-01-14)  
<http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Notiabeja%202000/Attachments/2/noti00ma.pdf>
30. (29-09-14) <http://www.scielo.org.ve/pdf/km/v38n1/art03.pdf>
31. (29-01-14) <http://www.news-medical.net/news/20120707/22502/Spanish.aspx>
32. (29-01-14) [www.propolisnatural.es](http://www.propolisnatural.es)
33. (29-01-14) <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v28n4/a13v28n4.pdf>
34. (24-05-14)  
[http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S000406222005000400009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S000406222005000400009&script=sci_arttext)
35. (09-06-14)  
[http://bibliotecadigital.fia.cl/gsd/collect/publicac/index/assoc/HASH01e8.dir/48\\_Ficha\\_Propoleo.pdf](http://bibliotecadigital.fia.cl/gsd/collect/publicac/index/assoc/HASH01e8.dir/48_Ficha_Propoleo.pdf)
36. (12-06-14) <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/letheencaldo.htm>
37. (02-08-14) <http://es.slideshare.net/wao2008/escherichia-coli-presentation>
38. (29-09-14) <http://www.revistasaludmilitar.com.uy/Volumenes/Vol%2028/PDF/4-Pag%2026%20a%2033%20Staphylococcus.pdf>
39. (2-10-14) <http://doctorsandlabs.com/magazine/diferencias-entre-jabones-y-syndets/>
40. (4-10-14) <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>

NOM's:

41. Norma Oficial Mexicana NOM-089-SSA 1-1994, Bienes y servicios. Métodos para la determinación del contenido microbiano en productos de belleza.
42. NMX-K-477-1982 Aseo personal- champúes para el cabello y el cuerpo
43. NMX-BB-040-SCFI-1999 Métodos generales de análisis - determinación de la actividad antimicrobiana en productos germicidas
44. NOM-073-SSA1-2005, Estabilidad de fármacos y medicamentos

## Anexos

### Anexo 1

#### Costos

#### Jabón líquido

Cotización del jabón líquido elaborado a base de propóleo con un volumen final de 250 mL contemplando dos diferentes proveedores de materias primas (Droguería Cosmopolita y Paris).

Tabla 1.1a  
*Precios de producción del jabón líquido*

Componente	Precio con 1% de propóleo	Precio con 3% de propóleo
*Conservador	\$ 0.12	\$ 0.12
*Tensoactivo primario	\$ 2.8	\$ 2.8
*Tensoactivo secundario	\$ 0.65	\$ 0.65
Humectante	\$ 0.13	\$ 0.13
Propóleo	\$ 5	\$ 15
Codisolvente	\$ 0.22	\$ 0.63
Espesante	\$ 0.01	\$ 0.01
<b>Precio Neto</b>	<b>\$ 8.92</b>	<b>\$ 19.34</b>

Precio neto para el caso del jabón líquido con 1% de propóleo es de 8.92 pesos, mientras que para el jabón líquido con 3% de propóleo es de 19.34 pesos para una presentación de 250mL, el uso esperado en nuestro producto que incluye: el uso como coadyuvante para el control de infecciones cutáneas y heridas, entre otros padecimientos.

## Shampoo

Cotización del shampoo elaborado a base de propóleo con un volumen final de 250 mL contemplando dos diferentes proveedores de materias primas (Droguería Cosmopolita y Paris).

Tabla 1.2a

*Precios de producción del shampoo*

Componente	Precio con 1% de propóleo	Precio con 3% de propóleo
*Tensoactivo primario	\$ 3.1	\$ 3.1
*Tensoactivo secundario	\$ 0.8	\$ 0.8
Agente reológico	\$ 0.49	\$ 0.49
Fragancia lavanda	\$ 0.22	\$ 0.22
Propóleo	\$ 5	\$ 15
Conservador	\$ 0.57	\$ 0.57
Codisolvente	\$ 0.22	\$ 0.63
Espesante	\$ 0.04	\$ 0.04
<b>Precio Neto</b>	<b>\$ 9.89</b>	<b>\$ 20.29</b>

Nuestro producto arranca con un precio de producción a granel de \$9.89 y \$20.29 por 250mL. (1% y 3% propóleo), sin contar pruebas de control de calidad.

\*Precios de Farmacias Paris

## Anexo 2

### Límite máximo de microorganismos permitidos en un lote

**Tabla 2.1a**

*Límites microbianos permitidos*

	<b>Cantidad de microorganismos</b>
Mesofílicas aeróbias	1000 UFC/g max.
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	Ausente

(42)

### Anexo 3

#### Análisis estadístico

Tabla 3.1a

Formulas usadas en el cálculo del ANOVA para diseño de datos aleatorios al azar.

Source of Variation	d.f.	SS	MS	F <sub>0</sub>
Factor A (between groups)	a-1	$SSA = \sum_{i=1}^a n_i (\bar{y}_i - \bar{y}_{..})^2$	$MSA = \frac{SSA}{(a-1)}$	$\frac{MSA}{MSE}$
Factor B (between groups)	b-1	$SSB = \sum_{j=1}^b n_j (\bar{y}_j - \bar{y}_{..})^2$	$MSB = \frac{SSB}{(b-1)}$	$\frac{MSB}{MSE}$
Error (within groups)	(a-1)(b-1)	$SSE = SST - SSA - SSB$	$MSE = \frac{SSE}{(a-1)(b-1)}$	
Total	N-1	$SST = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (y_{ij} - \bar{y}_{..})^2$		

Tabla 3.2a

Resultado del análisis estadístico de la varianza realizado para jabón líquido.

F.V	G.L	SC	CM	F.calculada
Tratamientos	2	433.632	216.816	1.5365
Bloques	3	1920.916	640.305	4.5377
Error	6	846.63	141.105	
Total	11	3201.18		

En base a los grados de libertad que presenta la F de tablas es de: 3.86.

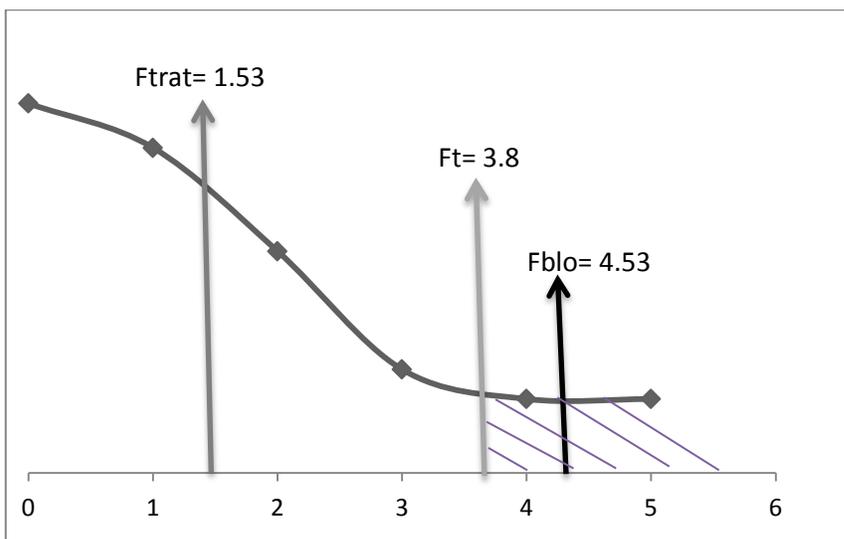


Gráfico 3.1. Resultado del análisis estadístico de la varianza realizado para jabón líquido.

Tabla 3.3a

*Resultado del análisis estadístico de la varianza realizado para shampoo.*

F.V	G.L	SC	CM	F.calculada
Tratamientos	1	7.5924	7.5924	1.174
Bloques	2	27.0133	13.506	2.0835
Error	5	32.318	6.4636	
Total	8	66.92		

En base a los grados de libertad que presenta la F de tablas es de: 4.75.

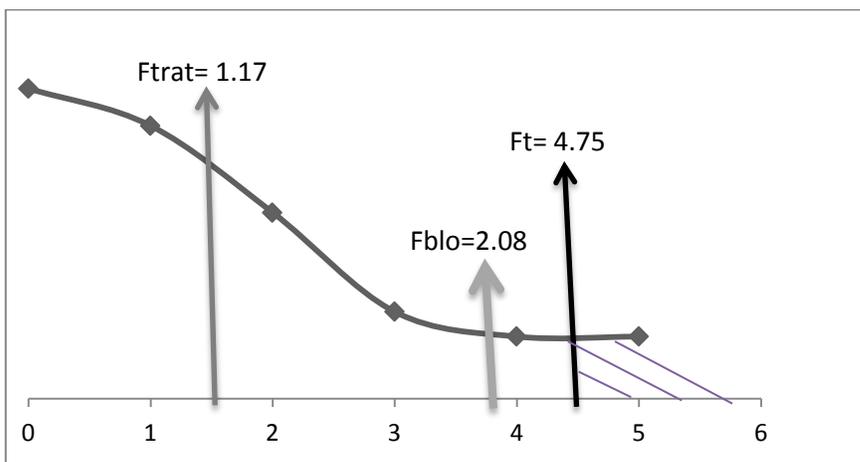


Gráfico 3.2a *Resultado del análisis estadístico de la varianza realizado para shampoo.*

Tabla 3.4a

Resultados de la prueba "t" de student para la aceptación o el rechazo de la hipótesis nula en la comparación de jabón líquido con 3% de propóleo y jabón líquido con 0% de propóleo.

	3%	0%	d	$(d-\bar{d})^2$
1	99.99	99.90	0.09	207.07
2	99.99	99.90	0.09	207.07
3	99.99	43.44	49.18	1204.09
4	92.62	91.42	8.57	34.92
			$\Sigma d=57.93$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=1653.15$

Se realizó el cálculo dando como resultado una t calculada de: 2.66 y en base a los grados de libertad se obtuvo una t de tablas de: 2.35 con un nivel de confianza de 90%.

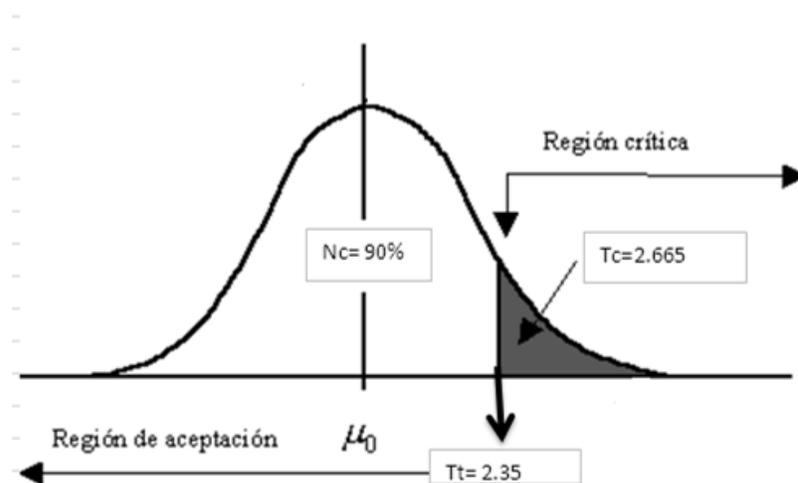


Gráfico3.3a Resultados de la prueba "t" de student en jabón líquido.

Tabla 3.5a

Resultados de la prueba t de student para la aceptación o el rechazo de la hipótesis nula en la comparación de shampoo con 3% de propóleo y shampoo con 0% de propóleo.

	3%	0%	D	$(d-\bar{d})^2$
1	99.99	99.90	0.09	22.18
2	94.18	99.90	5.72	0.8464
3	99.99	91.40	8.59	14.364
			$\Sigma d=14.4$	$\Sigma(d-\bar{d})^2=37.39$

Se realizó el cálculo dando como resultado una t calculada de: 4.3 y en base a los grados de libertad se obtuvo una t de tablas de: 2.92 con un nivel de confianza de 90%.

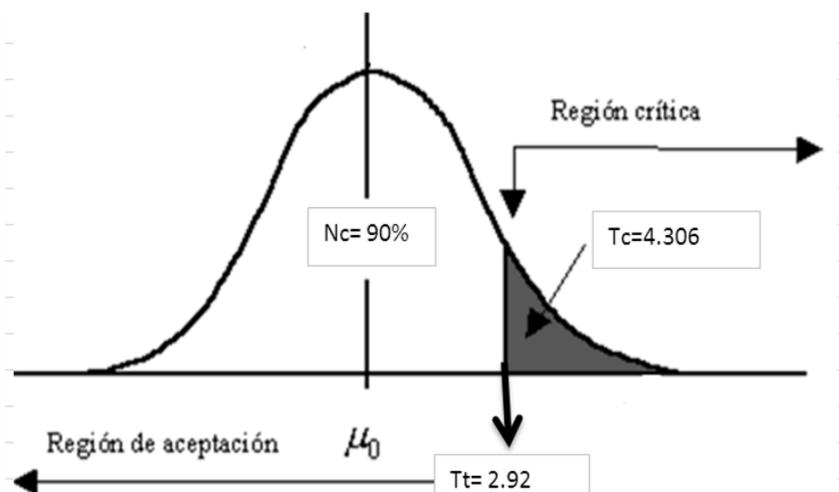


Gráfico 3.4a Resultados de la prueba t de student en shampoo.

Concluyendo en esta prueba que hay una diferencia estadística entre las medias de los productos que contienen 3% de propóleo con respecto a los que tienen 0% de propóleo en ambos casos, rechazando así la hipótesis nula que indica la igualdad entre medias.

## **Anexo 4**

### **Medios para el control de calidad**

#### **Caldo Lethen modificado**

Peptona de carne..... 22.7 g.  
Extracto de carne..... 6.35 g.  
Lecitina de soya..... 0.85 mL.  
Agua peptonada..... 5 g.  
Bisulfato de sodio..... 0.08 g.

En el medio de cultivo, la peptona, el extracto de carne y la lecitina de soya, aportan los nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico.

Este medio de cultivo, tiene la capacidad para neutralizar desinfectantes, debido a la presencia de lecitina de soya, que además de aportar nutrientes al medio de cultivo, actúa como agente emulsificante y neutraliza compuestos de amonio cuaternario.

El agregado de Tween 20 o Tween 80, es útil para neutralizar compuestos tales como fenol, formalina, hexaclorofeno, y la combinación de la lecitina con el Tween, permiten neutralizar etanol. (36)

#### **Caldo Dextrosa Sabouraud**

Agua peptonada 10,0 g  
Dextrosa 40,0 g

Las peptonas son fuentes de factores de crecimiento nitrogenados. La dextrosa proporciona una fuente de energía para el crecimiento de microorganismos.

## Anexo 5

### Cepas bacteriológicas utilizadas

#### *Escherichia coli* CDBB-B-1010

Datos generales:

Número: CDBB-B-1010

Género: *Escherichia*

Especie: *coli*

Acónimo: (AMCC 198)(ATCC 11229)

Depositante: Martínez Cruz Jovita

Medios de cultivo y Temperatura

Medio 1: Agar Nutritivo (AN) 37° C

Medio 18: Infusión cerebro corazón (BHI) 37° C

Medio 99: Agar soya-tripticaseina (AST) 37° C

Tabla 5.1a

*Perfil bioquímico a las 24 hrs de E.coli*

Prueba	Resultado
Gram	-
Catalasa	+
O/F	O+    F+

*Perfil bioquímico a las 24 hrs (continuación)*

PRUEBA	SUBSTRATO	REACCION	RESULTADO
ONPG	ONPG	Beta-galactosidasa	+
ADH	Arginina	Arginina-dihidrolasa	-
LDC	Lisina	Lisina descarboxilasa	-
ODC	Ornitina	Ornitina descarboxilasa	+
CIT	Citrato	Utilización de citrato	-
H2S	Tiosulfato Na	Producción de H2S	-
URE	Urea	Hidrólisis de urea	-
TDA	Triptófano	Deaminasa	-
IND	Triptófano	Producción de indol	w
VP	Piruvato Na	Producción de acetoina	-
GEL	Charcoal gelatina	Licuefacción de la gelatina	-
GLU	Glucosa	Fermentación/oxidación	+
MAN	Manitol	Fermentación/oxidación	+
INO	Inositol	Fermentación/oxidación	-
SOR	Sorbitol	Fermentación/oxidación	+
RHA	Ramnosa	Fermentación/oxidación	+
SAC	Sacarosa	Fermentación/oxidación	-
MEL	Melibiosa	Fermentación/oxidación	+
AMV	Amigdalina	Fermentación/oxidación	-
ARA	Arabinosa	Fermentación/oxidación	+
OX	Oxidasa	Oxidasa	-

W= reacción leve

***Staphylococcus aureus* CDBB-B-1005-1001**

Nombre: *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus*

Acrónimos: (ATCC 6538) (CIP 483) (OSM 799) (FOA209) (IFO 53276)

Depositante: González Pérez Enrique

Descripción: Aislada de una lesión humana

Medio de cultivo y temperatura:

Agar nutritivo 37° C

Agar soya tripticaseina 37° C

Tabla 5.2a

*Perfil bioquímico de Staphylococcus aureus:*

Prueba	Resultado
KOH	+
Gram	+
Catalasa	+
O/F	O-      F-

*Perfil bioquímico de Staphylococcus aureus (continuación):*

PRUEBA	REACCION	RESULTADO
GLU	D-Glucosa	+
FRU	D-Fructosa	+
MNE	D-Manosa	+
MAL	Maltosa	+
LAC	Lactosa	+
TRE	D-Trehalosa	+
MAN	D-Manitol	+
XLT	Xilitol	-
MEL	D-Melibiosa	-
NIT	Reducción de nitratos a nitritos	+

PAL	Fosfatasa alcalina	+
VP	Producción de acetil-metil-carbinol	+
RAF	Rafinosa	-
XYL	Xylosa	-
SAC	Sacarosaucrosa	+
MDG	n-metil-O-glucosido	-
NAG	n-acetil-glucosamina	+
ADH	Arginina dihidrolasa	+
URE	Ureasa	+
OXI	Oxidasa	-

## Anexo 6

**Cálculos para encontrar si los datos irregulares son datos atípicos por medio de la prueba de Grubbs**

$$T = \frac{|X_o - X|}{S}$$

.En el caso del jabón líquido 1% de propóleo el dato del segundo mes en la tercera evaluación es un dato sospechoso por lo que se realizó la prueba demostrando que era un valor atípico.

A temperatura ambiente se manejo un 5% de riesgo con una n= 4 y un valor critico de tablas de 1.46

$$T = \frac{|73.77 - 93.36|}{13.065} = 1.49$$

$$1.49 > 1.46$$

Con un porcentaje de humedad de 60 y 32°C se manejo un 5% de riesgo con una n=3 y su valor critico correspondiente de tablas de 1.1543

$$T = \frac{|80.32 - 93.37|}{11.3} = 1.1548$$

$$1.1548 > 1.1543$$

Con el jabón líquido 3% de propóleo el dato del segundo mes en la tercera evaluación es un dato sospechoso por lo que se realizó la prueba demostrando que era un valor atípico.

Con un porcentaje de humedad de 60 y 32°C se manejo un 5% de riesgo con una n=3 y su valor critico correspondiente de tablas de 1.1543

$$T = \frac{|72.95 - 90.81|}{15.47} = 1.1544$$

$$1.1544 > 1.1543$$

En el shampoo 1% de propóleo el dato del segundo mes en la tercera evaluación es un dato sospechoso por lo que se realizó la prueba demostrando que era un valor atípico.

A temperatura ambiente se manejo un 5% de riesgo con una  $n=4$  y un valor critico de tablas de 1.46

$$T = \frac{|39.75 - 84.78|}{30.02} = 1.5$$

$$1.5 > 1.46$$

Con un porcentaje de humedad de 60 y 32°C se manejo un 5% de riesgo con una  $n=3$  y su valor critico correspondiente de tablas de 1.1543

$$T = \frac{|72.81 - 90.89|}{15.66} = 1.1545$$

$$1.1545 > 1.1543$$

Por último en el caso del shampoo 3% de propóleo el dato del segundo mes en la tercera evaluación es un dato sospechoso por lo que se realizó la prueba demostrando que era un valor atípico.

A temperatura ambiente se manejo un 5% de riesgo con una  $n=4$  y un valor critico de tablas de 1.46

$$T = \frac{|4.508 - 74.62|}{46.82} = 1.49$$

$$1.49 > 1.46$$

Con un porcentaje de humedad de 60 y 32°C se manejo un 5% de riesgo con una  $n=3$  y su valor critico correspondiente de tablas de 1.1543

$$T = \frac{|56.14 - 76.77|}{21.98} = 0.93$$

$$0.93 > 1.1543$$

Adicionalmente se corrieron a la par la prueba para los productos sin propóleo tanto jabón líquido como shampoo ambos casos mantenidos a temperatura ambiente encontrando los valores atípicos.

Para jabón líquido se manejo un 5% de riesgo con una  $n= 4$  y un valor critico de tablas de 1.46

$$T = \frac{|43.44 - 83.66|}{27.11} = 1.48$$

$$1.48 > 1.46$$

Para shampoo se manejo un 5% de riesgo con una  $n= 4$  y un valor critico de tablas de 1.46

$$T = \frac{|72.95 - 91.60|}{12.68} = 1.47$$

$$1.47 > 1.46$$