



PROCOLOS

**ANÁLISIS
MICROBIOLÓGICO
EN LA INDUSTRIA
COSMÉTICA**

Riesgo microbiológico en la industria cosmética

En los tiempos actuales, dónde cada vez más se estrecha el cerco sobre el riesgo sanitario de los distintos productos comercializados, el **control microbiológico** de los **productos cosméticos** se antoja imprescindible para garantizar la seguridad del consumidor y la calidad del producto, siendo de vital importancia para mantener una buena imagen por parte de la empresa productora o comercializadora en el mercado.

A día de hoy no hay un método oficial de control microbiológico de cosméticos, pero organismos internacionales como las **Normas ISO** (International Standard Organization) tratan de armonizar y establecer parámetros de control reproducibles y que aseguren la fiabilidad de los resultados obtenidos.

Aun así encontramos una serie de Normas ISO que estandarizan el control en productos cosméticos, estableciendo análisis de riesgo de contaminación así como criterios de aceptación o rechazo de los lotes producidos. Los **criterios de aceptación/rechazo** de lotes según **ISO 17516:2014** son:



Tipos de microorganismos	Productos específicamente destinados para niños, menores de tres años de edad, área ocular o membranas mucosas	Otros productos
Microorganismos totales aerobios mesófilos (bacterias, mohos y levaduras)	≤ 1 x 10 ² UFC por g o ml ^a	≤ 1 x 10 ³ UFC por g o ml ^b
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1 g o 1 ml	Ausencia en 1 g o 1 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia en 1 g o 1 ml	Ausencia en 1 g o 1 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en 1 g o 1 ml	Ausencia en 1 g o 1 ml
<i>Candida albicans</i>	Ausencia en 1 g o 1 ml	Ausencia en 1 g o 1 ml

Debido a la variabilidad inherente en el método de recuento en placa, según el Capítulo 61 de la USP o le capítulo 2.6.12 de la EP. Interpretación de resultados, los resultados se consideran fuera del límite si a > 200 UFC/g o ml b > 2000 UFC/g o ml

NOTA: Cuando se detectan colonias de bacterias en agar Saboraud Dextrosa se puede usar Agar Saboraud Dextrosa con antibióticos

Desde **Condalab** ponemos a tu disposición todos los **medios de cultivo según formulaciones ISO** para facilitar los análisis de control microbiológico en cosmética.

Índice

RECuento Y DETECCIÓN DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES _____	04
Procedimiento según ISO 21149:2017	
ENUMERACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS _____	05
Procedimiento según ISO 16212:2017	
DETECCIÓN DE ESCHERICHIA COLI _____	06
Procedimiento según ISO 21150:2016	
DETECCIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS _____	07
Procedimiento según 22718:2015	
DETECCIÓN DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA _____	08
Procedimiento según ISO 22717:2015	
DETECCIÓN DE CANDIDA ALBICANS _____	09
Procedimiento según ISO 18416:2015	



Recuento y detección de *Aerobios Mesófilos Totales*

Procedimiento según ISO 21149:2017

Introducción

El análisis de este grupo de bacterias incluye a todos los microorganismos capaces de desarrollarse en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 20 °C y 45 °C. El recuento de microorganismos aerobios mesófilos, en las condiciones establecidas, estima la microflora total del producto pero sin especificar e identificar el tipo de microorganismo.

Un recuento bajo de estos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera que un recuento elevado no implica presencia de flora patógena. Ahora bien, un recuento elevado no es recomendable ya que esto puede significar:

- Excesiva contaminación de la materia prima.
- Deficiente manipulación durante el proceso de elaboración.
- La posibilidad de que existan patógenos (ya que son microorganismos mesófilos).
- La inmediata alteración del producto.

Bibliografía

COLIPA. *Guidelines on Microbial Quality Management*, 1997
Published by the European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association (COLIPA).

UNE-EN-ISO 21149:2017. *Cosmetics. Microbiology. Enumeration and detection of aerobic mesophilic bacteria.*

E. P. *Microbiological Examination of non-sterile products*, 4th edition, published by the European Pharmacopeia, 2002.



Método

ENRIQUECIMIENTO Y BLOQUEO

1 ml/g de muestra + 9 ml de Caldo Eugon LT 100 (CAT. 2110)
Incubación: 32,5 °C ± 2,5 °C – 20 h/72 h

También pueden utilizarse otros caldos de enriquecimiento como:
Caldo Neutralizante Dey-Engley (CAT. 2003)
Caldo Lethen Modificado (CAT. 1244)

Si su producto no requiere neutralizantes, puede diluirse directamente en Agua Peptonada Tamponada (CAT. 1402)

ASLAMIENTO PRESUNTIVO

Agar Soja y Trypticaseína (TSA) (CAT. 1068)
Incubación: 32,5 °C ± 2,5 °C – 24h /48 h

También pueden utilizarse otro medio para el aislamiento como el Agar Eugon LT 100 (CAT. 2152)

LECTURA DE RESULTADOS

Se realiza el recuento en placa de las UFC y se toma la decisión de aceptación/rechazo en función de los criterios establecidos por la ISO 17516:2014

Enumeración de Mohos y Levaduras

Procedimiento según ISO 16212:2017

Introducción

Los hongos y las levaduras son organismos pertenecientes al reino Fungi. Este grupo presenta múltiples formas, incluidos setas, mohos y organismos microscópicos como las levaduras. Comúnmente se da el nombre de moho a ciertos hongos multicelulares filamentosos, dotados de un micelio verdadero, microscópicos y cuyo crecimiento en los cosméticos se reconoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso.

Los hongos son microorganismos aerobios estrictos, eucarióticos, característicamente miceliares y heterótrofos con nutrición por absorción. Se desarrollan en un rango de pH entre 2 y 9, temperaturas de 10 °C a 35 °C y pueden crecer en condiciones de actividad de agua (a_w) relativamente bajas.

Bibliografía

COLIPA. *Guidelines on Microbial Quality Management*, 1997
Published by the European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association (COLIPA).

UNE-EN-ISO 16212:2017. *Cosmetics. Microbiology. Enumeration of yeast and mould.*

EN 13624:2003, *Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal activity of chemical disinfectants for instruments used in the medical area. Test method and requirements (phase 2, step 1).*

Método

ENRIQUECIMIENTO Y BLOQUEO

1 ml/g de muestra + 9 ml de Caldo Eugon IT 100 (CAT. 2110)
Incubación: 32,5 °C ± 2,5 °C – 20 h/72 h

También pueden utilizarse otros caldos de enriquecimiento como:
Caldo Neutralizante Dey-Engley (CAT. 2003)
Caldo Lethen Modificado (CAT. 1244)

Si su producto no requiere neutralizantes, puede diluirse directamente en Agua Peptonada Tamponada (CAT. 1402)

AISLAMIENTO PRESUNTIVO

Agar Dextrosa Sabouraud + Cloranfenicol (CAT. 1134) /
Incubación: 25 °C ± 2,5 °C – 3/5 días

LECTURA DE RESULTADOS

Se realiza el recuento en placa de las UFC y se toma la decisión de aceptación/rechazo en función de los criterios establecidos por la ISO 17516:2014

Detección de *Escherichia Coli*

Procedimiento según ISO 21150:2015

Introducción

Se trata de un microorganismo perteneciente a la familia de las Enterobacteriaceae. Es un bacilo gram-negativo, móvil y no esporulado. Además es lactosa positiva (esto es, fermenta dicho carbohidrato) y oxidasa negativa.

Es una bacteria ubicua en el intestino de los seres humanos y animales de sangre caliente. Debido a su alta presencia en el tracto intestinal y heces, es un microorganismo indicador de malas prácticas higiénicas durante la fabricación de productos cosméticos.

Bibliografía

UNE-EN-ISO 21150:2015. *Cosmetic – Microbiology – Detection of Escherichia coli*.

Geis, PA (ed.). *Cosmetic Microbiology. A practical approach*. Taylor and Francis. 2nd edition. US (2006).

Entidad Nacional de Acreditación (ENAC). *Análisis microbiológicos. Documento aclaratorio*. NT-32 Rev. 2. (2010).



Método

ENRIQUECIMIENTO Y BLOQUEO

1 ml/g de muestra + 9 ml de Caldo Eugon LT 100 (CAT. 2110) Incubación: 32,5 °C ± 2,5 °C – 20 h/72 h

También pueden utilizarse otros caldos de enriquecimiento como:
Caldo Neutralizante Dey-Engley (CAT. 2003)
Caldo Lethen Modificado (CAT. 1244)
Caldo Lactosado (CAT. 1206)

Si necesita más información sobre como neutralizar los distintos conservantes, no dude en contactar con nosotros

AISLAMIENTO PRESUNTIVO

Agar MacConkey (CAT. 1052)
Incubación: 32,5 °C ± 2 °C – 24 h/48 h

LECTURA DE RESULTADOS

Las colonias se presentan de color rojo ladrillo y precipitados biliares

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Seleccionando colonias bien separadas realizar:
Tinción de Gram: bacilos gram - negativos (CAT. 4600)

CONFIRMACIÓN

Aislamiento selectivo en Agar Levine (EMB) (CAT.1050)
Incubación: 32,5 °C ± 2 °C – 24 h/48 h

LECTURA DE RESULTADOS

Colonias *E. coli* con brillo metálico bajo luz reflejada y apariencia negro-azulada bajo luz transmitida

Detección de *Staphylococcus Aureus*

Procedimiento según ISO 22718:2015

Introducción

Se trata de bacterias perteneciente a la familia Staphylococcaceae. Son cocos anaerobios facultativos agrupados en racimos, gram-positivos, inmóviles y no esporulados. Además son productores de factores de virulencia como coagulasas y catalasas que son utilizados para las pruebas confirmatorias tras el aislamiento.

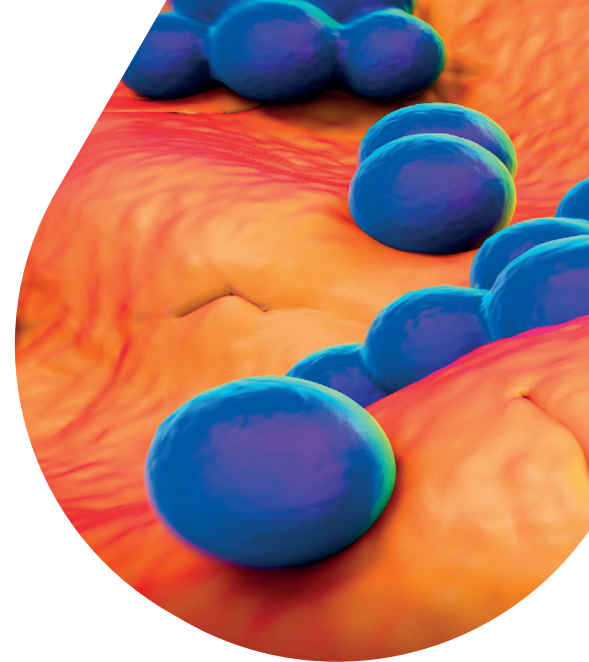
Esta es una bacteria ampliamente distribuida a nivel mundial y que actúa de comensal en el epitelio humano. Es también un patógeno oportunista, por lo que su identificación en los productos cosméticos se antoja crucial para asegurar la salud de los consumidores.

Bibliografía

Harris LG, Foster SJ, Richards RG. *An introduction to Staphylococcus aureus, and techniques for identifying and quantifying S.aureus adhesins in relations to adhesion to biomaterials: Review.* Eur Cells Mater. 2002 jul-dec; 4(2): 39-60.

Bustos-Martínez JA, Hamdan-Partida A, Gutiérrez-Cárdenas M. *Staphylococcus aureus: la reemergencia de un patógeno en la comunidad.* Rev Biomed. 2006 oct-dic; 17(4): 287-305.

UNE-EN-ISO 22718:2015. *Cosmetics. Microbiology. Detection of Staphylococcus aureus.*



Método

ENRIQUECIMIENTO Y BLOQUEO

1 ml/g de muestra + 9 ml de Caldo Eugon LT 100 (CAT. 2110) Incubación: 32,5 °C ± 2 °C – 20 h/72 h

También pueden utilizarse otros caldos de enriquecimiento como:
Caldo Neutralizante Dey-Engley (CAT. 2003)
Caldo Lethen Modificado (CAT. 1244)

Si necesita más información sobre como neutralizar los distintos conservantes, no dude en contactar con nosotros

AISLAMIENTO PRESUNTIVO

Agar Baird Parker (CAT. 1100 + CAT. 5129)
Incubación: 32,5 °C ± 2 °C – 24 h/48 h

Existen otros medios de cultivo contemplados en la normativa como: Agar Sal y Manitol (MSA) (Medio Chapman) (CAT. 1062), Agar Vogel-Johnson (CAT. 1079)

LECTURA DE RESULTADOS

Las colonias se presentan de color negro brillante y rodeadas de una zona clara (2 – 5 mm)

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Seleccionando colonias bien separadas realizar:

- Tinción de Gram: cocos gram-positivos agrupados en racimos (CAT. 4600)
- Prueba de la catalasa (+)
- Prueba de la coagulasa (+)

Detección de *Pseudomonas Aeruginosa*

Procedimiento según ISO 22717:2015

Introducción

Se trata de bacterias perteneciente a la familia Pseudomonadaceae. Son bacilos rectos o curvos, aerobios estrictos, gram-negativos, móviles y no esporuladas. Además son catalasa positiva, utilizando dicha característica para su posterior identificación.

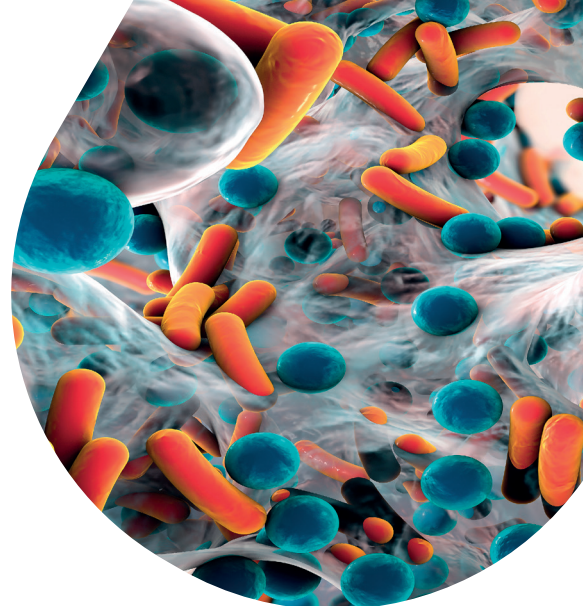
Este grupo de bacterias son capaces de producir distintos pigmentos como piocianina y fluoresceína. De hecho, se desarrollaron varios medios de cultivo para promover la producción de dichos pigmentos y así poder identificar las distintas especies.

Bibliografía

SINGER S. *The Use of Preservative Neutralizers in Diluents and Plating Media*. Cosmetics and Toiletries. 1987, December, 102 p 55.

E P. *Microbiological Examination of non-sterile products*, 4th edition, published by the European Pharmacopeia, 2002.

UNE-EN-ISO 22717:2015. *Cosmetics. Microbiology. Detection of Pseudomonas aeruginosa*.



Método

ENRIQUECIMIENTO Y BLOQUEO

1 ml/g de muestra + 9 ml de Caldo Eugon LT 100 (CAT. 2110)
Incubación: 32,5 °C ± 2,5 °C – 20 h/72 h

También pueden utilizarse otros caldos de enriquecimiento como:
Caldo Neutralizante Dey-Engley (CAT. 2003)
Caldo Letheen Modificado (CAT. 1244)

Si necesita más información sobre como neutralizar los distintos conservantes, no dude en contactar con nosotros

ASLAMIENTO PRESUNTIVO

Agar Cetrimida (CAT. 1102)
Incubación: 32,5 °C ± 2,5 °C – 24 h/48 h

LECTURA DE RESULTADOS

Las colonias presentan pigmentos amarillo-verdosos (piocianina) con fluorescencia bajo luz UV

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Seleccionando colonias bien separadas realizar:

- Tinción de Gram: bacilos gram-negativos (CAT. 4600)
- Prueba de la oxidasa (+)

CONFIRMACIÓN

Aislamiento de las colonias sospecha crecidas en el agar cetrimida en Medio King A (Agar Pseudomonas P) (CAT. 1531) Incubación: 32,5 °C ± 2,5 °C – 24 h/48 h/72h

LECTURA DE RESULTADOS

Comprobación del crecimiento a las 24, 48 y 72 h. *P. aeruginosa* forma colonias rodeadas de una zona azul verdosa (piocianina) o roja/marrón (piorrubina)

Detección de *Candida Albicans*

Procedimiento según ISO 18416:2015

Introducción

Se trata de levaduras pertenecientes a la familia de Saccharomycetaceae y al género *Candida*. Estos hongos se desarrollan de forma unicelular y son saprófitos del ser humano. Es muy común encontrarlas en las cavidades orales, tracto gastrointestinal y zona vaginal. Aunque tienen una función muy importante en la fermentación de determinados azúcares para el organismo, hay veces que este microorganismo actúa como patógeno oportunista.

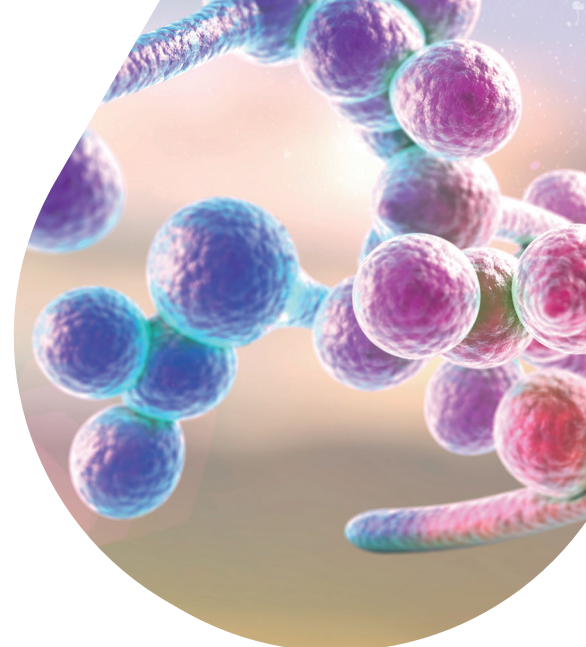
Por esto último es necesario analizar los productos de cosméticas con el objetivo de identificar la presencia de dicho microorganismo y así evitar las consecuencias de una posible infección por *C. albicans* en el consumidor.

Bibliografía

KELLY, J.P., and FUNIGIELLO, F. *Candida albicans: A study of media designed to promote chlamydospore production*, J. Lab. & Clin. Med., 53, 1959, pp 807 – 809.

GORDON, M.A and LITTLE G.N., *Effective dehydrated media with surfactants for identification of Candida albicans*. J. of Int. Soc. for Human and Animal Mycol. 2, 1963, pp 171 – 175.

UNE-EN-ISO 18416:2015. *Cosmetics. Microbiology. Detection of Candida albicans*.



Método

ENRIQUECIMIENTO Y BLOQUEO

1 ml/g de muestra + 9 ml de Caldo Eugon LT 100 (CAT. 2110)
Incubación: 32,5 °C ± 2,5 °C – 20 h/72 h+

También pueden utilizarse otros caldos de enriquecimiento como:
Caldo Neutralizante Dey-Engley (CAT. 2003)
Caldo Lethen Modificado (CAT. 1244)

Si necesita más información sobre como neutralizar los distintos conservantes, no dude en contactar con nosotros

AISLAMIENTO PRESUNTIVO

Agar Dextrosa Sabouraud + Cloranfenicol (CAT. 1134)
Incubación: 32,5 °C ± 2,5 °C – 24 h/48 h

Existen otros medios de cultivo contemplados en la normativa como: Agar Dextrosa y Patata (CAT. 1022)

También hay otros medios de rutina no contemplados en la normativa como el Agar Biggy (CAT. 1006)

LECTURA DE RESULTADOS

Las colonias se presentan de color blanco a beige, cremosas y convexas

IDENTIFICACIÓN

Seleccionando colonias bien separadas realizar:

- Tinción de Gram (CAT. 4600): células ovoides cortas o alargadas, de color violáceo con posibles células en gemación
- Prueba de germinación (+)



Condalab

Inspired by knowledge

export@condalab.com | www.condalab.com