

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Evaluación del contenido microbiológico y
cuantificación de plomo en pinturas faciales infantiles
obtenidas en el Mercado Central de Lima. Setiembre
2015**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Paul Riemann CRUZ AUSEJO
Indira Consuelo NÁJERA GÁLVEZ

ASESOR

Julio Reynaldo RUIZ QUIROZ
Jesús Víctor LIZANO GUTIÉRREZ

Lima - Perú

2017



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**“EVALUACIÓN DEL CONTENIDO MICROBIOLÓGICO Y CUANTIFICACIÓN DE PLOMO
EN PINTURAS FACIALES INFANTILES OBTENIDAS EN EL MERCADO CENTRAL DE
LIMA. SETIEMBRE 2015”**

Que presentan los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

PAUL RIEMANN CRUZ AUSEJO
INDIRA CONSUELO NÁJERA GÁLVEZ

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

DIECIOCHO (18) SOBRESULENTE

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 06 de octubre de 2017.


Dra. María Elena Salazar Salvatierra
Presidente


Mg. Luis Alberto Inostroza Ruiz
Miembro


Mg. José Antonio Llahuilla Quea
Miembro


Q.F. Omar Hugo Santa María Chávez
Miembro

“FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO”

DEDICATORIA

Con profunda admiración este trabajo va dedicado a mis padres, Alfonsina y Alejandro, por demostrarme que no existe obstáculo alguno que impida superar nuestras limitaciones.

A mis hermanas, Ruth y Emily, por permitirme ser acreedor de su confianza y por ser motivo de incontables alegrías.

A todos aquellos que encuentren en este trabajo una referencia para realizar investigaciones de esta índole.

Paul

Dedicado a quien se lo debo todo, a Dios, por ser una fuente inagotable de fortaleza y amor.

A mis padres, quienes son mi inspiración, mi motivación y fuente de sabiduría.

A mis hermanas, Aliosha y Olenka, por ser mis compañeras de alegrías y tristezas, de triunfos y derrotas. Por estar siempre.

Indira

AGRADECIMIENTOS

Agradecer al eterno observador por su inagotable cuota de esperanza.

A nuestras familias por ser fuente de motivación constante e incansable apoyo a lo largo de nuestras vidas.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por la calidad y exigencia educativa, pero sobre todo por formarnos para servir a la sociedad.

Finalmente, a nuestros asesores por la contribución científica, los sabios consejos y por representar trayectorias profesionales ejemplares.

ÍNDICE

I. RESUMEN	1
II. SUMMARY	2
III. INTRODUCCIÓN	3
IV. OBJETIVOS	5
4.1. Objetivo general	5
4.2. Objetivos específicos	5
V. HIPÓTESIS	5
VI. GENERALIDADES	6
6.1. Definición de cosméticos	6
6.2. Componentes de los cosméticos	6
6.3. Tipos de productos cosméticos	7
6.4. Estabilidad de los cosméticos	9
6.5. Control de calidad	9
6.5.1. Controles organolépticos	10
6.5.2. Controles fisicoquímicos	11
6.5.3. Controles microbiológicos	11
6.5.3.1. Contaminación microbiana y sus orígenes	12
6.5.3.2. Principales microorganismos patógenos en cosméticos.....	14
6.5.3.3. Normatividad y legislación para contenido microbiológico en cosméticos	16
6.5.3.3.1. Información técnica del producto	22
6.5.4. Controles toxicológicos	22
6.5.4.1. Plomo	23
6.5.4.1.1. Propiedades fisicoquímicas	25
6.5.4.1.2. Fuentes de contaminación de plomo	25
6.5.4.1.3. Toxicocinética	27
6.5.4.1.4. Toxicodinamia	30

6.5.4.1.5. Tratamiento	34
6.5.4.1.6. Regulación de niveles de plomo en cosméticos	35
VII. PARTE EXPERIMENTAL	37
7.1. Materiales	37
7.1.1. Materiales usados en el análisis microbiológico	37
7.1.2. Materiales usados en el análisis toxicológico	37
7.2. Equipos	38
7.2.1. Equipos empleados en el análisis microbiológico	38
7.2.2. Equipos empleados en el análisis toxicológico	38
7.3. Diseño experimental	38
7.4. Población y muestra	38
7.5. Nomenclatura de las muestras	39
7.6. Análisis microbiológico	39
7.6.1. Reactivos	39
7.6.2. Medios de cultivo	40
7.6.3. Técnica	40
7.6.3.1. Manipulación de las muestras	40
7.6.3.2. Preparación preliminar de las muestras (diluciones).....	41
7.6.3.3. Evaluación microbiológica	41
7.6.3.3.1. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales	41
7.6.3.3.2. Recuento de mohos y levaduras	43
7.6.3.3.3. Pruebas de promoción de crecimiento de los medios de cultivo	44
7.6.3.3.4. Identificación de microorganismos	52
7.7. Determinación del contenido de plomo	55
7.7.1. Espectroscopía de absorción atómica	55
7.7.1.1. Espectrofotometría de absorción atómica en horno de grafito	55

7.7.1.1.1. Reactivos	57
7.7.1.1.2. Preparación de la muestra	57
7.7.1.1.3. Medición	59
VIII. RESULTADOS	64
8.1. Inspección de los rotulados de las muestras	64
8.2. Análisis microbiológico	66
8.2.1. Recuento de mesófilos aerobios totales	67
8.2.2. Recuento de mohos y levaduras	68
8.2.3. Recuento de mesófilos aerobios totales vs Límites establecidos	69
8.2.4. Pruebas de promoción de crecimiento	70
8.2.5. Recuento de mohos y levaduras vs Límites establecidos	75
8.2.6. Evaluación de la presencia de microorganismos patógenos	76
8.3. Análisis de plomo	77
IX. DISCUSIÓN	81
X. CONCLUSIONES	85
XI. RECOMENDACIONES	86
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
XIII. ANEXOS	94

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Límites microbiológicos para cosméticos según la CAN	18
Tabla 2. Límites microbiológicos para cosméticos según FDA	19
Tabla 3. Límites microbiológicos para cosméticos según la Cosmetics Europe - The Personal Care Association	19
Tabla 4. Límites microbiológicos para cosméticos. Norma Europea EN ISO 17516: 2014	20
Tabla 5. Límites microbiológicos para cosméticos según Reglamento Técnico Centroamericano	21
Tabla 6. Absorbancia de los patrones de plomo	60
Tabla 7. Información técnica del rotulado por marca de producto.....	64
Tabla 8. Composición de las pinturas faciales detallada en el rotulado por marca de producto.....	65
Tabla 9. Resultados del recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales y recuento de mohos y levaduras	66
Tabla 10. Comparación de resultados del recuento de mesófilos aerobios totales con límites máximos permisibles	73
Tabla 11. Comparación entre el número de muestras que exceden y no exceden el límite máximo permisible de recuento de mesófilos aerobios totales	74
Tabla 12. Concentración de Pb en pinturas faciales.....	77
Tabla 13. Contenido de Plomo frente al límite máximo recomendado.....	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Modelo biológico del plomo	29
Figura 2. Distribución del plomo, modelo de los tres compartimentos en el organismo humano	30
Figura 3. Efectos del plomo en la síntesis del Hem	32
Figura 4. Proceso de manipulación y pesada de una muestra	40
Figura 5. Preparación de diluciones seriadas (10^{-1} a 10^{-6}) para una muestra	41
Figura 6. Esquema de la preparación preliminar de las muestras y los recuentos	44
Figura 7. Primera prueba de promoción de crecimiento	49
Figura 8. Segunda prueba de promoción de crecimiento	50
Figura 9. Tercera prueba de promoción de crecimiento	51
Figura 10. Esquema del procedimiento para identificación de microorganismos patógenos	54
Figura 11. Esquema básico de un espectrómetro de absorción atómica	55
Figura 12. Sistema de obtención de átomos en estado fundamental en EAA con horno de grafito	56
Figura 13. Preparación de muestra para análisis de plomo	58
Figura 14. Curva de calibración de Pb	61
Figura 15. Condiciones ópticas para la medición de Pb por horno de grafito	62
Figura 16. Programa de temperatura para la medición de Pb por horno de grafito	62
Figura 17. Determinación de Pb por EAA en horno de grafito	63
Figura 18. Recuento de mesófilos aerobios totales	67
Figura 19. Recuento de mohos y levaduras	68
Figura 20. Recuento de mesófilos aerobios totales vs límites establecidos	69

Figura 21. Resultados de la 1ª prueba de promoción de crecimiento (Placas 1 y 2)	70
Figura 22. Resultados de la 2ª prueba de promoción de crecimiento – Técnica de sembrado por extensión (Placas 1 y 2)	71
Figura 23. Resultados de la 2ª prueba de promoción de crecimiento – Técnica de sembrado por incorporación (Placas 1 y 2)	71
Figura 24. Resultados de la 3ª prueba de promoción de crecimiento después de 24 h (Placas 1 y 2)	72
Figura 25. Resultados de la 3ª prueba de promoción de crecimiento después de 48 h (Placas 1 y 2)	72
Figura 26. Comparación entre el porcentaje de muestras que exceden y no exceden el límite máximo permisible de recuento de mesófilos aerobios totales	74
Figura 27. Recuento de mohos y levaduras vs límites permisibles	75
Figura 28. Concentración de Pb por muestra	79
Figura 29. Concentración promedio de Pb por marca comercial	80
Figura 30. Comparación entre el porcentaje de muestras que exceden y no exceden el LMR	80

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS Y ACRÓNIMOS

AAS o EAA: Atomic absorption spectroscopy o Espectroscopía de absorción atómica

a_w: Actividad de agua

BAL: British Antilewisite o Anti-lewisita británica (Dimercaprol)

BAM: Manual de Bacteriología Analítica

CAN: Comunidad Andina de Naciones

CEE: Comunidad Económica Europea

CDC: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades

CFU o UFC: Colony forming units o Unidad formadora de colonias

DIGEMID: Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas

DMSA: Ácido dimercaptosuccínico

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos

ISO: Organización Internacional de Normalización

MLA: Agar Lethen modificado

MLB: Caldo Lethen modificado

m.o.: Microorganismo

Mol: Unidad que expresa la cantidad de una sustancia

OMS: Organización Mundial de la Salud

Pb: Plomo

pH: Potencial hidrogenión

PDA: Agar Papa Dextrosa

ppm: Partes por millón

QP: Químicamente puro

RTC: Reglamento Técnico Centroamericano

SDA: Agar Sabouraud Dextrosa

USAQ: Unidad de Servicios de Análisis Químicos – UNMSM

UTI: Infección de Tracto Urinario

I. RESUMEN

El presente estudio evaluó el contenido microbiológico y la concentración de plomo en pinturas faciales infantiles obtenidas en el Mercado Central de Lima. Para realizar esta investigación se recolectaron 25 muestras de 5 marcas de gran aceptación en el mercado nacional. El análisis microbiológico se realizó mediante las técnicas estandarizadas del Manual de Bacteriología Analítica (BAM) de la FDA. A partir de los resultados obtenidos, se observó que 21 muestras cumplen con el límite máximo permisible para recuento de mesófilos aerobios totales que señala la Comisión Europea (2×10^2 UFC/g) mientras que las cuatro muestras restantes mostraron resultados que incumplen esta especificación ($2,5 \times 10^2$ UFC/g; $2,5 \times 10^2$ UFC/g; 3×10^2 UFC/g y 8×10^2 UFC/g). Por otro lado, el total de muestras cumplieron con el límite de aceptabilidad para recuento de mohos y levaduras (10^2 UFC/g - Reglamento Técnico Centroamericano RTC 71.03.45:07) y para identificación de microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. La evaluación del contenido de plomo se realizó mediante Espectroscopía de Absorción Atómica en Horno de Grafito y se encontró una media de 5,7944 ppm con cifras extremas de 1,2 ppm y 47,88 ppm. Del análisis realizado, se concluye que 12 % de las muestras no cumplen con el límite máximo permisible para plomo (10 ppm, según FDA en diciembre 2016).

Palabras Clave: pinturas faciales infantiles, contenido microbiológico, concentración de plomo.

II. SUMMARY

The present study evaluated the microbiological content and the concentration of lead in children's face paints obtained in the Central Market of Lima. To carry out this research 25 samples of 5 brands of great acceptance were collected in the national market. The microbiological analysis was performed using the standardized techniques of the Manual of Analytical Bacteriology (BAM) of the FDA. From the results obtained, it was observed that 21 samples comply with the maximum allowable limit for counting of total aerobic mesophiles indicated by the European Commission (2×10^2 CFU/g) while the remaining four samples showed results that did not meet this specification ($2,5 \times 10^2$ CFU/g; $2,5 \times 10^2$ CFU/g; 3×10^2 CFU/g y 8×10^2 CFU/g). On the other hand, the total sample complied with the acceptability limit for mold and yeast counts (10^2 CFU/g - Central American Technical Regulation RTC 71.03.45: 07) and for the identification of pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia Coli* and *Candida albicans*. The evaluation of the lead content was performed by Atomic Absorption Spectroscopy in Graphite Furnace and found an average of 5,7944 ppm with extreme figures of 1,2 ppm and 47,88 ppm. From the analysis performed, it is concluded that 12% of the samples do not meet the maximum permissible limit for lead (10 ppm, according to FDA in December 2016).

Keywords: children's face paints, microbiological content, lead concentration.

III. INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia el uso de cosméticos ha sido una gran constante. En sus inicios fueron usados para limpiar, embellecer y modificar, de alguna manera, la apariencia; basta con observar culturas tan antiguas como la Egipcia de la cual se conoce que hace más de 7000 años usaban antimonio (Sb) en polvo y malaquita (mineral de cobre de color verde) como sombra para los ojos. Ya en el año 3500 a.C., los faraones egipcios utilizaban aceites perfumados para el cabello. Por otro lado, Claudius Galeno, un médico Griego del siglo II d.C. inventó la *cold cream*. Durante la Edad Moderna, Caballeros de Europa del siglo XVII utilizaban cosméticos en abundancia, a menudo para esconder los olores desagradables por la falta de baño. Asimismo, las Damas de Europa del siglo XVIII blanqueaban su rostro con carbonato de plomo (PbCO_3) lo que trajo como consecuencia que muchas murieran por envenenamiento con plomo¹.

En el siglo XX, época de los grandes descubrimientos científicos, se dio inicio al desarrollo de la industria química; en esta etapa los productos de belleza dejan de ser un lujo. Los creadores franceses comienzan a ser los portadores de la moda, aparecen en el mercado nuevos productos, se intenta respetar la fisonomía de lo natural. La juventud imprime sello y cada día se intenta regresar a los productos naturales con bases en aceites vegetales, frutas, hierbas, leche y miel. Sin embargo, nada del pasado se acerca a la cantidad y variedad de cosméticos que la gente usa en el mundo industrial moderno¹.

Los productos cosméticos son compuestos que debido a su función tienen contacto directo con las diversas partes superficiales del cuerpo humano, como dientes y mucosas, por lo que deben cumplir con estrictos parámetros de calidad microbiológica, toxicológica y fisicoquímica. Más aún si dichos productos están dirigidos a bebés y niños de corta edad, ya que deben estar libres de patógenos de alta virulencia y con recuentos microbianos bajos².

El uso de productos cosméticos como el maquillaje facial para niños se ha incrementado con el paso de los años. Por ello una evaluación de su calidad sanitaria y de los componentes utilizados en su elaboración es indispensable, incluso en la etapa de post-comercialización².

Actualmente, fuentes informativas nacionales e internacionales nos advierten sobre una posible y significativa contaminación microbiana en este tipo de productos; además de niveles de plomo por encima de los límites permitidos debido al uso de aditivos de color en su fabricación que contienen plomo como impureza. Ambas situaciones constituyen riesgos para la salud de los niños²⁻⁵.

Según estudios, la presencia de diversos microorganismos en los cosméticos está relacionada con parámetros como la Actividad de Agua (a_w) y el contenido de humedad ya que ambos determinan condiciones propicias para su crecimiento⁶⁻⁸. Los cosméticos contaminados con bacterias pueden causar irritaciones e infecciones en la piel y en los ojos^{9,10}.

De acuerdo con el Centro para Prevención y Control de Enfermedades (CDC) de EE.UU., ninguna cantidad de plomo es segura para los niños. Asimismo, una exposición continua o periódica al plomo, incluso en concentraciones mínimas, puede derivar inicialmente en reacciones como picazón, alergias y la aparición de manchas grisáceas en la piel y posteriormente una acumulación en los sistemas nervioso, óseo, sanguíneo y reproductivo de los niños que en un futuro, podría provocar perturbaciones nerviosas, además de esterilidad y casos de aborto espontáneo^{3,4}.

La presente investigación nos permite conocer la calidad microbiológica y el contenido de plomo de cosméticos como son las pinturas faciales infantiles que hoy en día están siendo usadas con mayor frecuencia por niños, adolescentes e incluso adultos que emplean esta variedad de cosméticos como maquillaje artístico.

IV. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el contenido microbiológico y la concentración de plomo en pinturas faciales infantiles comercializadas en el Mercado Central de Lima.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar el recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales en pinturas faciales infantiles comercializadas en el Mercado Central de Lima.
- Realizar un recuento total de mohos y levaduras en pinturas faciales infantiles comercializadas en el Mercado Central de Lima.
- Evaluar la presencia de microorganismos patógenos en pinturas faciales infantiles comercializadas en el Mercado Central de Lima.
- Evaluar la cantidad de plomo por Espectroscopía de Absorción Atómica en horno de grafito en pinturas faciales infantiles comercializadas en el Mercado Central de Lima.

V. HIPÓTESIS

El contenido microbiológico y la concentración de plomo en pinturas faciales infantiles comercializadas en el Mercado Central de Lima exceden los valores permisibles establecidos por entidades internacionales como: CAN, Cosmetics Europe, Comisión Europea, FDA, Comité de Normalización y de Reglamentación Técnica de los Países de la Región Centroamericana y la OMS.

VI. GENERALIDADES

6.1. DEFINICIÓN DE COSMÉTICOS

Según la Comunidad Andina de Naciones¹¹:

“Se entenderá por producto cosmético toda sustancia o preparado destinado para la puesta en contacto con las diversas partes superficiales del cuerpo humano (epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos) o con los dientes y las mucosas de la cavidad oral con el fin exclusivo o principal de limpiarlos, perfumarlos o protegerlos con el fin de mantenerlos en buen estado, modificar su aspecto o corregir los olores corporales”.

Por otro lado, la “Federal Food, Drug, and Cosmetic Act”¹², los define como:

“Artículos previstos para frotarse, verterse, rociarse o atomizarse, introducirse o de otra forma aplicarse en el cuerpo humano para limpiar, embellecer, aumentar el atractivo o modificar la apariencia”.

6.2. COMPONENTES DE LOS COSMÉTICOS

Los componentes de los productos cosméticos pueden cumplir distintas funciones dentro de una formulación. Algunos pueden tener un determinado efecto cosmético y otros sirven de complemento para darle al producto una determinada forma cosmética.

Algunas de las funciones¹³ pueden ser: Abrasivo, absorbente, antiapelmazante, anticorrosivo, anticaspa, antiespumante, antimicrobiano, antioxidante, antiperspirante, antiseborreico, astringente, buffer, quelante, colorante, emoliente, emulsificante, estabilizante, saborizante, espumante, acondicionante, humectante, queratolítico, perfumante, preservante, solvente, surfactante, filtro UV y controlador de la viscosidad (Anexo 1).

6.3. TIPOS DE PRODUCTOS COSMÉTICOS

Al igual que para la definición de los producto cosméticos, no existe una clasificación específica para ellos. Por ejemplo, la Comunidad Andina de Naciones¹¹ los clasifica de la siguiente manera:

- a) Cosméticos para niños.
- b) Cosméticos para el área de los ojos.
- c) Cosméticos para la piel.
- d) Cosméticos para los labios.
- e) Cosméticos para el aseo e higiene corporal.
- f) Desodorantes y antitranspirantes.
- g) Cosméticos capilares.
- h) Cosméticos para las uñas.
- i) Cosméticos de perfumería.
- j) Productos para higiene bucal y dental.
- k) Productos para y después del afeitado.
- l) Productos para el bronceado, protección solar y autobronceadores.
- m) Depilatorios.
- n) Productos para el blanqueo de la piel.

De acuerdo con esta clasificación, en el grupo de cosméticos para la piel encontramos los del tipo maquillaje para el cuerpo (Anexo 2), dentro del cual podemos ubicar a productos con fines decorativos como las **pinturas faciales** que si bien, como su propio nombre lo señala, son destinadas al rostro, muchas veces son consideradas de manera general como pinturas corporales en lo que corresponde al llamado maquillaje artístico o de fantasía.

Por otro parte, la legislación europea¹⁴ nos indica las siguientes categorías:

- a) Cremas, emulsiones, lociones, geles y aceites para la piel.

- b) Máscaras de belleza (con exclusión de los productos de abrasión superficial de la piel por vía química).
- c) Maquillaje (líquidos, pastas, polvos).
- d) Polvos de maquillaje, polvos para utilizar después del baño y para la higiene corporal.
- e) Jabón de tocador, jabón desodorante.
- f) Perfumes, aguas de tocador, aguas de colonia.
- g) Productos para baño y ducha (sales, espumas, aceites, geles).
- h) Depilatorios.
- i) Desodorantes y antitranspirantes.
- j) Productos capilares:
 - Tintes y decolorantes.
 - Productos para moldear, para desrizar y fijar.
 - Productos que ayudan a mantener el peinado.
 - Productos de limpieza (lociones, polvos, champús).
 - Productos acondicionadores (lociones, lacas, brillantinas).
 - Otros productos para el peinado.
- k) Productos para el afeitado (jabones, espumas, lociones).
- l) Productos para el maquillaje y desmaquillaje de la cara y los ojos.
- m) Productos para los labios.
- n) Productos para cuidado bucal y dental.
- o) Productos para cuidado y maquillaje de las uñas.
- p) Productos para cuidado íntimo externo.
- q) Productos solares.
- r) Productos para bronceado sin sol.
- s) Productos blanqueadores de la piel.
- t) Productos antiarrugas.

6.4. ESTABILIDAD DE LOS COSMÉTICOS¹⁵

El estudio de estabilidad de los productos cosméticos nos indica su comportamiento frente a diversas condiciones a las que pudo ser expuesto desde su fabricación hasta la fecha en la que expira.

Según la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (Anvisa) de Brasil:

“Cada componente, activo o no, puede afectar la estabilidad de un producto. Variables relacionadas a la formulación, al proceso de fabricación, al material de acondicionamiento y a las condiciones ambientales y de transporte pueden influenciar en la estabilidad del producto”.

Por lo tanto, de acuerdo a su origen, pueden ser clasificadas como extrínsecas o intrínsecas según se trate de factores externos o internos (inherentes a la formulación), respectivamente.

Una de las contribuciones del estudio de la estabilidad de productos cosméticos es estimar el plazo de validez definido como el período de vida útil durante el cual el producto mantiene sus características originales. Un producto inestable desde el punto de vista físico-químico, microbiológico o toxicológico, además de ocasionar pérdida de eficacia podrá también causar daño y comprometer la aceptación del consumidor.

6.5. CONTROL DE CALIDAD

De acuerdo con Altunaga *et al.*¹⁶, “la inocuidad y la calidad de los cosméticos (...) constituyen elementos de importancia para la salud de la población y el desarrollo económico y social”.

La calidad de un producto cosmético, en la misma forma que para otro tipo de productos, se define inicialmente por el fabricante quien elige las características que un producto debe presentar¹⁷. Además, la calidad se

encuentra en el producto como resultado de las actividades que desarrollaron grupos de personas dentro de la industria, desde el operario común hasta el más alto directivo de la empresa¹⁸.

Es a través del control de calidad de un producto que se busca verificar si todas las características definidas por el fabricante están de acuerdo con las definiciones estándar y si se mantienen durante la vida útil del producto¹⁶. Asimismo es importante para garantizar la eficacia y seguridad de los productos y sus materias primas¹⁹.

Para aprobar y considerar un producto como apto para el uso o consumo humano, se requiere la comprobación de las características físicas, químicas, biológicas, toxicológicas, etcétera, así como la ejecución de análisis de laboratorio, la correspondencia con las normas sanitarias y la presentación de certificados sanitarios de las autoridades competentes¹⁶.

6.5.1. Controles Organolépticos

Al no existir ningún equipo o instrumento capaz de medir los sentidos humanos, el análisis sensorial se convierte en una poderosa herramienta. Este se utiliza para indicar la aceptación del consumidor de un producto en particular¹⁸.

Según Anvisa¹⁵, de un modo general, se evalúan:

- Aspecto
- Color
- Olor
- Sabor
- Sensación al tacto

6.5.2. Controles Físicoquímicos¹⁵

Estos análisis permiten estudiar las alteraciones en la estructura de la formulación que no son perceptibles fácilmente. Éstos pueden indicar inestabilidad entre los ingredientes o evidenciar dificultades durante el proceso de fabricación.

Los análisis físico-químicos sugeridos son:

- Valor de pH
- Materiales volátiles
- Contenido de agua
- Viscosidad
- Tamaño de la partícula
- Centrifugación
- Densidad
- Granulometría
- Conductividad eléctrica
- Humedad
- Contenido de activo

Asimismo, si fuera necesario, se puede realizar una determinación cuantitativa de los componentes de la formulación a través de diferentes técnicas analíticas como:

- Espectrofotometría de Ultravioleta-Visible (UV-Vis) e Infrarrojo (IR)
- Cromatografía (capa delgada, gaseosa y líquida de alta eficiencia)
- Electroforesis capilar, entre otras.

6.5.3. Controles Microbiológicos²⁰

El control microbiológico de productos cosméticos se considera de gran importancia ya que estos contienen gran cantidad de componentes que

pueden ser utilizados por los microorganismos como nutrientes. A su vez presentan las condiciones necesarias para la multiplicación de estos microorganismos los cuales son capaces de deteriorar el producto o, incluso, afectar la salud del consumidor.

Pese al uso de conservantes, los cosméticos son susceptibles de contaminación microbiana debido a su composición. Por ello, según Santos de la Sen *et al.*²⁰, “es indispensable la realización controles adicionales para evitar las infecciones y perjuicios derivados del uso de cosméticos contaminados, y evitar en lo posible el biodeterioro de los productos cosméticos”.

6.5.3.1. Contaminación microbiana y sus orígenes¹⁰

Leranz S.¹⁰ sostiene que la contaminación microbiana de un producto cosmético puede tener diferentes orígenes relacionados a materias primas, medio ambiente, equipo de fabricación y envasado, personal y el uso del consumidor.

- **Materias primas**

Un producto contaminado puede ser originado por el uso de materias primas altamente contaminadas cuyo grado depende de su origen. Aquellas de origen sintético contienen relativamente pocos microorganismos, mientras que los componentes naturales se hallan frecuentemente muy contaminados (gomas, extractos vegetales). Uno de los orígenes más frecuentes de contaminación es el agua utilizada en la fabricación del producto.

- **Medio ambiente**

El aire, al ser portador de microorganismos como hongos y esporas bacterianas, al entrar en contacto con el producto puede ocasionar su

contaminación. Para evitarlo, se debe reducir al máximo las corrientes de aire sobre el producto cosmético.

- **Equipo de fabricación y envasado**

Durante estas etapas, la contaminación se puede deber a la deficiente o inadecuada limpieza de los equipos e instalaciones, así como a la inadecuada práctica que puede generar la acumulación de microorganismos en éstos. Debido a ello se pueden convertir fácilmente en vectores de contaminación para el producto final.

- **Personal**

Leranoz S.¹⁰ afirma que “muchos de los procesos realizados durante la fabricación y envasado requieren la intervención de operarios, lo que supone un riesgo microbiológico importante y en ocasiones difícilmente controlable”. Por ello es importante la capacitación de los operarios en cuanto a hábitos de higiene personal y seguimiento de Buenas Prácticas de Manufactura.

- **Utilización por el consumidor**

Los cosméticos pueden contaminarse con la microbiota residente en la piel del propio usuario.

Como resultado de la contaminación microbiana de productos cosméticos, pueden ocurrir cambios no deseados con respecto al olor del producto, color, viscosidad y rendimiento. Las endotoxinas y los metabolitos producidos por los microorganismos pueden causar abrasión, irritación o alergias en la piel, lo cual representa un riesgo para la salud del consumidor²¹.

De acuerdo con ANVISA¹⁵:

“La evaluación microbiológica permite verificar si la elección del sistema conservante es adecuada, o si la incidencia de interacciones entre los componentes de la formulación podrá afectar la eficacia”.

El Manual de Bacteriología Analítica (BAM) de la FDA recomienda determinados procedimientos para el análisis microbiológico de productos cosméticos²². Es así que podemos basar el análisis microbiológico en dos fases: La primera que consiste en realizar el bloqueo de los conservantes del producto cosmético y el enriquecimiento de los microorganismos presentes en él a través de la inoculación de una muestra representativa del producto en un medio inactivador de conservantes; y la segunda en la que desde este medio se procede a realizar un recuento de microorganismos mesófilos, mohos y levaduras, y a realizar el análisis de los microorganismos enriquecidos para determinar si se trata de especies potencialmente patógenas²⁰.

6.5.3.2. Principales microorganismos patógenos en cosméticos

- ***Staphylococcus aureus*:**

S. aureus es el principal agente etiológico de las infecciones de piel y tejidos blandos (IPTBs) como el impétigo que es una infección de la epidermis que afecta principalmente a áreas expuestas, la foliculitis que se produce en las zonas vellosas del cuerpo sobre todo cara, cuello, axilas y nalgas, o el carbunco que es una infección de piel y tejidos blandos más profunda²³.

Siendo características propias de *S. aureus* la fermentación del manitol y la producción de la enzima coagulasa (esta última que la diferencia del resto de las especies del género *Staphylococcus*), el medio de cultivo Agar Manitol Salado (AMS) nos permite su aislamiento y

diferenciación. Las cepas de estafilococos coagulasa positivo fermentan el manitol y se visualizan como colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color^{24,25}.

- ***Pseudomonas aeruginosa:***

P. aeruginosa es un bacilo gram negativo no fermentativo oportunista responsable de una amplia variedad de infecciones en los seres humanos que van desde infecciones del tracto urinario (UTIs), relativamente sencillos, a infecciones graves y potencialmente amenazantes incluidos sepsis neonatal e infecciones pulmonares crónicas en pacientes con fibrosis quística²⁶. Y es posible que este organismo móvil pueda entrar en el ojo a través del uso de cosméticos destinados a esta área y que se encuentran contaminados microbiológicamente²⁷.

Un medio de cultivo como el Agar Cetrimida nos permite su identificación a través de un crecimiento característico de colonias colores verde-azulado, rojizo o marrón de acuerdo a la producción de determinados pigmentos como la piocianina, pioverdina, piorrubina y fluoresceína²⁵.

- ***Escherichia coli:***

Representa el prototipo de bacterias entéricas y constituye una porción importante de la microflora bacteriana aerobia normal²⁸. Aunque la mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas, algunas pueden causar enfermedades como diarrea, síndrome urémico hemolítico, colitis hemorrágica y cuadros de disentería, principalmente en niños. La bacteria se puede aislar e identificar tradicionalmente con base en sus características bioquímicas²⁹ a través de, por ejemplo, el Agar Mac Conkey, en el cual las colonias de *E. coli* se desarrollan con

características definidas. Este medio contiene los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano, sustratos fermentables como la lactosa, y otros ingredientes más como sales biliares, por ejemplo, que se encargan de inhibir el desarrollo de la flora Gram positiva. El crecimiento de colonias de *E. coli* en este medio se caracteriza por un color rosado-rojizo con un halo de precipitación biliar²⁵.

- ***Candida albicans***²⁸:

Algunas especies de levaduras del género *Candida* pueden causar candidiasis la cual es la micosis sistémica más común, siendo la *C. albicans* uno de los agentes que con mayor frecuencia la producen. Son miembros de la flora normal de la piel, las mucosas y las vías gastrointestinales, sin embargo la candidiasis superficial (cutánea o de mucosas) surge por un incremento en el número local de células de *Candida* y daño de la piel o del epitelio.

En medios de cultivo como el agar Dextrosa Saboraud, las especies de *Candida* producen colonias blandas de color crema con un olor a levadura²⁵. Podemos diferenciar *C. albicans*, patógeno más frecuente, de otras especies de *Candida* a través de dos técnicas morfológicas sencillas: después de incubación en suero durante unos 90 min a 37 °C, las levaduras de *C. albicans* comienzan a formar hifas verdaderas o tubos germinativos; y en medios con deficiencia de nutrientes *C. albicans* produce grandes clamidosporas esféricas²⁸.

6.5.3.3. Normatividad y legislación para contenido microbiológico en cosméticos

Según la Ley 29459, los productos cosméticos, los cuales son ubicados dentro del grupo de los productos sanitarios, son definidos como productos destinados a la limpieza, cuidado, modificación del aspecto, perfume y protección personal³⁰.

Esta ley define y establece los principios, normas, criterios y exigencias básicas sobre los cosméticos y regula la actuación de las personas que intervienen en la fabricación, importación, exportación, almacenamiento, distribución, comercialización, promoción, publicidad, uso y destino final de estos productos.

Asimismo establece la obligatoriedad del registro sanitario, el cual es expedido por la Autoridad Nacional de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios (ANM), DIGEMID. En el caso de los productos cosméticos el registro sanitario, el cual faculta a su titular para la fabricación, importación, almacenamiento, distribución, comercialización, promoción, expendio y uso, es sustituido por el mecanismo más ágil y sencillo de la Notificación Sanitaria Obligatoria.

De acuerdo con la Decisión 516 de la Comunidad Andina¹¹, la Notificación Sanitaria Obligatoria es la comunicación mediante la cual el fabricante o comercializador, por medio de una declaración jurada, informa a la Autoridad Sanitaria de su intención de comercializar un producto cosmético. La vigencia de la Notificación Sanitaria obligatoria no podrá ser inferior a siete años contados desde la fecha de presentación de la notificación que además debe ir acompañada de importante información técnica del producto como la fórmula cuali-cuantitativa, especificaciones organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas.

Por otro lado, los productos cosméticos con la misma composición básica cuali-cuantitativa, uso y denominación genérica, que posean diferentes propiedades organolépticas (color, olor y sabor) serán considerados grupos cosméticos y se ampararán bajo una misma Notificación Sanitaria Obligatoria.

La Resolución 797, Reglamento de la Decisión 516 sobre Control y Vigilancia Sanitaria de Productos Cosméticos, en el Artículo 4° menciona que la

Autoridad Nacional competente de cada país miembro de la Comunidad Andina llevará a cabo visitas periódicas de inspección a fin de verificar que los productos cosméticos comercializados cumplan con las especificaciones técnicas de la Notificación Sanitaria Obligatoria³¹. A través de la Resolución 1418 se adiciona a la Resolución 797 los límites de contenido microbiológico en productos cosméticos³².

La Resolución 1482 (modificación de la Resolución 1418) de la CAN³³, la cual fue tomada como referencia, señala los límites de contenido microbiológico de acuerdo al área de aplicación del producto cosmético y la fase etaria (Tabla 1):

Tabla 1. Límites microbiológicos para cosméticos según la CAN³³

ÁREA DE APLICACIÓN Y FASE ETARIA	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD
Productos para uso en infantes (hasta 3 años).	a. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^2 UFC/g o mL.
Productos para uso en área de ojos.	b. Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g o mL c. Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o mL
Productos que entran en contacto con las membranas mucosas.	d. Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o mL
Demás productos cosméticos susceptibles de contaminación microbiológica.	a. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5×10^3 UFC/g ó mL. b. Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g ó mL c. Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o mL d. Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o mL
Productos a ser utilizados en los órganos genitales externos.	a. Ausencia de <i>Candida albicans</i>

También se ha considerado como referencia directrices de organismos internacionales como la Food and Drug Administration (FDA) que brinda límites microbiológicos para cosméticos los cuales se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Límites microbiológicos para cosméticos según la FDA³⁴

ÁREA DE APLICACIÓN	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD
Productos para uso en área de los ojos	<ul style="list-style-type: none"> a. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos: 5×10^2 UFC/g o mL. b. Ausencia de cualquier patógeno y patógeno oportunista.
Demás productos	<ul style="list-style-type: none"> a. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos: 1×10^3 UFC/g o mL. b. Ausencia de cualquier patógeno y patógeno oportunista.

La Cosmetics Europe - The Personal Care Association (antes Colipa), a través del documento “Guidelines on Microbial Quality Management (MQM), 1997” establece límites microbiológicos para cosméticos los cuales se detallan en la Tabla 3.

Tabla 3. Límites microbiológicos para cosméticos según la Cosmetics Europe- The Personal Care Association³⁵

ÁREA DE APLICACIÓN	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD
Productos para uso en área de los ojos y para uso en bebés	<ul style="list-style-type: none"> a. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos: 5×10^2 UFC/g o mL b. Ausencia de <i>S. aureus</i> en 0,1 g o 0,1 mL. c. Ausencia de <i>P. aeruginosa</i> en 0,1 g o 0,1 mL. d. Ausencia de <i>C. albicans</i> en 0,1 g o mL.
Demás productos	<ul style="list-style-type: none"> a. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos: 5×10^3 UFC/g o mL b. Ausencia de <i>S. aureus</i> en 0,1 g o 0,1 mL. c. Ausencia de <i>P. aeruginosa</i> en 0,1 g o 0,1 mL. d. Ausencia de <i>C. albicans</i> en 0,1 g o 0,1 mL.

La Comisión Europea, basándose en la ISO 17516:2014³⁶, establece también límites microbiológicos para cosméticos, los cuales se detallan en la Tabla 4.

Tabla 4. Límites microbiológicos para cosméticos. Norma Europea³⁶ EN ISO 17516: 2014

Tipos de microorganismos	Productos específicamente destinados a niños menores de tres años de edad, área de los ojos o membranas mucosas	Otros productos
Total de microorganismos aeróbicos mesófilos (bacterias más levaduras y mohos)	$\leq 1 \times 10^2$ UFC por g o mL (a)	$\leq 1 \times 10^3$ 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 inherente variabilidad del método de recuento en placa, de acuerdo a la USP Capítulos 61 o EP Capítulo 2.6.12. Interpretación de resultados, resultados considerados fuera del límite si:

- a) > 200 UFC/g o mL
- b) > 2000 UFC/g o mL

El Comité de Normalización y de Reglamentación Técnica de los Países de la Región Centroamericana, a través del Reglamento Técnico Centroamericano RTC 71.03.45:07, refiere los límites microbianos para el recuento de mohos y levaduras según lo muestra la Tabla 5.

Tabla 5. Límites microbiológicos para cosméticos según Reglamento Técnico Centroamericano³⁷

Producto	Determinación	Especificación
Para bebé	Recuento Total de Mesófilos aerobios	$\leq 10^2$ UFC/g
	Recuento Total de Mohos y Levaduras	$\leq 10^2$ UFC/g
Para el contorno de ojos	Recuento Total de Mesófilos aerobios	No más de 5×10^2 UFC/g
	Recuento Total de Mohos y Levaduras	$\leq 10^2$ UFC/g
Todos los otros	Recuento Total de Mesófilos aerobios	$\leq 10^3$ UFC/g
	Recuento Total de Mohos y Levaduras	$\leq 10^2$ UFC/g

6.5.3.3.1. Información técnica del producto:

La evaluación sanitaria de los productos cosméticos, se efectúa de acuerdo al tipo de producto y el riesgo sanitario, para ello se evalúa la etiqueta del producto, los documentos técnicos proporcionados por el fabricante y de ser necesario, se procede a la comprobación del principio activo¹⁵.

Los productos cosméticos sólo podrán comercializarse si en el envase o en el empaque se registra, de forma legible, información como el nombre o razón social del fabricante o del responsable de la comercialización del producto, el nombre del país de origen, el contenido nominal en peso o en volumen, las precauciones particulares de empleo, el número de lote, el número de Notificación Sanitaria Obligatoria y la lista de ingredientes¹¹.

En los envases o empaques de los productos que se expenden en forma individual que sean de tamaño muy pequeño deberá figurar como mínimo el nombre del producto, el número de Notificación Sanitaria Obligatoria, el contenido nominal, el número de lote y las sustancias que impliquen riesgo sanitario¹¹.

6.5.4. Controles Toxicológicos

La evaluación constante de los productos cosméticos se ha vuelto imperativo ya que los componentes presentes en las distintas formulaciones cosméticas actuales como: tintes de cabello, maquillaje, sombras y labiales pueden atravesar la piel, mucosas, cuero cabelludo etc., y por lo tanto alterar la bioquímica del cuerpo humano. Sustancias como los metales pesados pueden estar presentes en este tipo de productos y alterar la salud del individuo³.

Específicamente, en la industria cosmética un punto crítico es el análisis de las materias primas, especialmente en el caso de los colorantes y pigmentos el plomo puede hallarse como una impureza. De ahí la necesidad de asegurar

que el producto cosmético sea inocuo para el consumidor al ser utilizado en condiciones normales y al mismo tiempo sea eficaz cumpliendo la función que declara en el envase, por lo que cada empresa debe ampliar sus criterios de seguridad y exigencia realizando controles de calidad de las materias primas hasta el producto terminado³.

6.5.4.1. Plomo

El plomo es un metal pesado que cuando ingresa en el organismo se acumula en los huesos. Su ingreso se realiza por las vías respiratorias o al ingerirlo, pasando desapercibido. La intoxicación que origina puede tener efectos muy serios en la salud, especialmente en los bebés en periodo de formación. La presencia de este metal en la sangre de la madre puede causar abortos espontáneos, provocar malformaciones leves en el feto, bebés prematuros o bebés con bajo peso y también puede afectar el desarrollo cerebral del niño cuando nace. Por ello es de importancia asegurarse que futuras madres y niños pequeños no entren en contacto con productos que lo puedan contener. Entre estos productos se pueden identificar: pinturas, cerámicas de artesanía, latas de alimentos soldadas, agua y cosméticos^{38,39}.

El envenenamiento por plomo ha sido identificado como un peligro para la salud desde hace más de 2000 años. Características particulares de su toxicidad incluye: anemia, cólico, neuropatía, nefropatía, esterilidad y coma. La exposición a niveles bajos ha sido asociado también con anormalidades del comportamiento, alteración del aprendizaje, disminución de la audición, y alteración de las funciones cognitivas en humanos y en animales experimentales⁴⁰. Mientras que exposiciones largas pueden provocar hipertensión, causado por daño renal. Algunos estudios de Al-Saleh *et al.*^{40,41} han revelado que el plomo puede entrar al cuerpo, a través de la absorción de la piel de los niños tan bien como en sus padres.

Los niños están expuestos durante toda la vida y son más vulnerables que los adultos a la intoxicación que causa. Pueden estar expuestos en el útero si la madre tiene plomo en su cuerpo. Los bebés pueden tragar este metal cuando maman o ingieren otros alimentos o bebidas que lo contienen. Los bebés y los niños pueden tragar y respirar plomo en la tierra, el polvo o la arena cuando juegan en el suelo. Estas actividades favorecen que los niños se expongan más que los adultos.

Ocasionalmente, los niños tragan artículos tales como pedazos de pintura seca; estos pueden contener cantidades muy altas de este metal, especialmente en o cerca de viviendas antiguas pintadas con pintura con plomo. La pintura en estas casas a menudo se quebraja y se mezcla con la tierra y el polvo. Algunas pinturas usadas en el pasado contenían hasta 50 % de plomo. Además, en los niños la porción que ingresa a la sangre es mayor en comparación con los adultos⁴².

En niños no se ha establecido un nivel considerado como aceptable. El plomo los afecta de diferentes maneras dependiendo de la cantidad ingerida; grandes cantidades pueden provocar el desarrollo de anemia, daño al riñón, cólico (severo dolor de estómago), debilidad muscular y daño cerebral, y eventualmente puede fallecer.

En algunos casos, la cantidad en el cuerpo de un niño puede reducirse mediante el uso de ciertos medicamentos que ayudan a su eliminación. Si la cantidad ingerida es baja, como por ejemplo polvo contaminado con pintura con plomo, puede sufrir alteraciones de menor gravedad, pero aun importantes, en la sangre, en el desarrollo y el comportamiento. En este caso, es probable que el niño se recupere una vez que la exposición termina, pero no hay ninguna garantía de evitar consecuencias a largo plazo. En niveles de exposición aún más bajos, el plomo puede afectar el desarrollo físico y mental de un niño⁴².

Un nivel alto en mujeres embarazadas puede inducir nacimientos prematuros y bebés con bajo peso. La exposición en el útero, durante la infancia o al comienzo de la niñez también puede retardar el desarrollo mental y reducir el cociente de inteligencia. Existe evidencia de que estos efectos pueden persistir más allá de la niñez⁴².

El plomo es un elemento muy tóxico para el ser humano. Estudios realizados en poblaciones infantiles han demostrado que produce daño aún a bajas concentraciones en sangre debido a ciertas condiciones especiales como presentar menor masa corporal, sistema nervioso en desarrollo, mayor tasa de absorción intestinal y menor tasa de eliminación⁴³.

El sistema nervioso es el principal tejido en deteriorarse, incluso a concentraciones bajas, se observan mayores niveles de plomo en la sustancia gris y los núcleos basales.

6.5.4.1.1. Propiedades Físicoquímicas

El plomo es un elemento metálico blando, dúctil, maleable, denso de color gris azulado y con brillo metálico, que se ubica en el grupo IV de la Tabla Periódica, con masa atómica de 270,0 g/mol, densidad de 11,34 g/mL, punto de ebullición de 1 740 °C y que al fundir a 327 °C emana vapores que son tóxicos⁴⁴.

El plomo expuesto al medio ambiente no se halla en estado natural, pues se oxida rápidamente en contacto con el aire tomando un aspecto mate. En contacto con el agua se oxida superficialmente con formación de $\text{Pb}(\text{OH})_2$, el cual es bastante soluble en agua. Sus estados de oxidación son 0, +2 y +4.

6.5.4.1.2. Fuentes de contaminación de plomo

Las personas pueden verse expuestas al plomo en su puesto de trabajo o en su entorno, principalmente a través de:

- La inhalación de partículas de plomo generadas por la combustión de materiales que contienen este metal (por ejemplo, durante actividades de fundición, reciclaje en condiciones no seguras o decapado de pintura con plomo, o al utilizar gasolina con plomo)³⁹;
- La ingestión de polvo, agua o alimentos contaminados (por ejemplo, agua canalizada a través de tuberías de plomo o alimentos envasados en recipientes con esmalte de plomo o soldados con este metal)³⁹.

Otra posible fuente de exposición al plomo es el uso de determinados productos cosméticos y medicamentos tradicionales³⁹.

Los niños de corta edad son particularmente vulnerables porque, según la fuente de contaminación, llegan a absorber una cantidad de plomo entre 4 y 5 veces mayor que los adultos. Por si esto fuera poco, su curiosidad innata y la costumbre, propia de su edad, de llevarse cosas a la boca, los hace más propensos a chupar y tragar objetos que contienen plomo o que están recubiertos de este metal (por ejemplo, tierra o polvo contaminado o escamas de pintura con plomo). Esta vía de exposición es aún mayor en los niños con pica (ansia persistente y compulsiva de ingerir sustancias no comestibles), que pueden arrancar, y luego tragar, por ejemplo, escamas de pintura de las paredes, los marcos de las puertas o los muebles³⁹.

En Senegal y Nigeria, la exposición a tierra y polvo contaminados por plomo debido al reciclaje de baterías y a actividades mineras ha provocado intoxicaciones masivas por plomo en niños de corta edad, que ha cobrado ya numerosas vidas³⁹.

Según las características químicas de la fuente de contaminación se tiene lo siguiente:

- **Plomo metal:**

Sólo es tóxico cuando se funde a temperaturas próximas a los 500 °C. Los vapores que emite son tóxicos y penetran en las vías respiratorias alcanzando fácilmente los alvéolos. Estos se oxidan rápidamente, haciéndose poco solubles. Según el tamaño y peso de las partículas, quedarán mayor o menor tiempo suspendidas en el aire para finalmente caer en el suelo, la cual es la forma fundamental de contaminación ambiental⁴³.

- **Derivados inorgánicos:**

Generalmente son poco solubles. Entre ellos, tenemos: óxido de plomo rojo, cromato de plomo, carbonato de plomo, sulfato de plomo, antimonio de plomo, los cuales derivan de los procesos industriales que involucran al plomo, como la fabricación de pinturas, esmaltes y cerámicas⁴³.

- **Derivados orgánicos:**

Son muy empleados en la industria. Entre ellos, tenemos al acetato de plomo (utilizado como abortivo), tetraetilo de plomo (antidetonante de la gasolina), estearato de plomo (utilizado para dar estabilidad y consistencia al plástico), naftenato de plomo (componente de grasas y aceites de uso industrial)^{43,47}.

6.5.4.1.3. Toxicocinética

El plomo puede ser inhalado y absorbido a través del sistema respiratorio o ingerido y absorbido por el tracto gastrointestinal; la absorción percutánea del plomo inorgánico es mínima, pero el plomo orgánico se absorbe bien por esta vía.

Después de la ingestión de plomo, éste se absorbe activamente, dependiendo de la forma, tamaño, tránsito gastrointestinal, estado nutricional y la edad. Existe mayor absorción de plomo bajo estas condiciones: si la partícula es pequeña, deficiencia de hierro y/o calcio, gran ingesta de grasa o inadecuada ingesta de calorías, cuando el estómago está vacío; y si se es niño, en cuyo caso la absorción de plomo es de 30 a 50 % mientras que en el adulto es de 10 % ^{48,49}.

El modelo biológico del plomo se puede ver en la Figura 1.

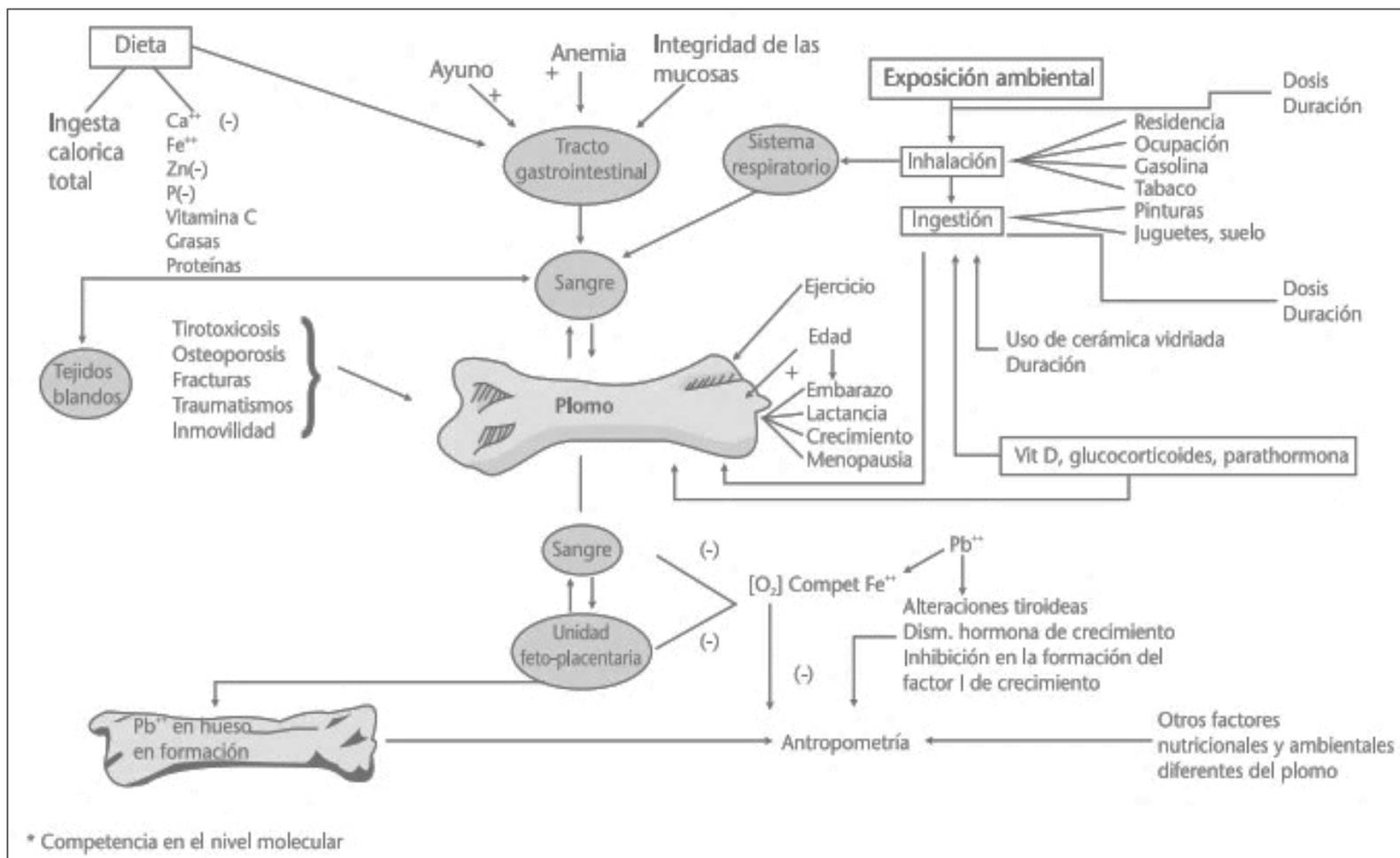


Figura 1. Modelo biológico del plomo⁵⁰

Luego de su absorción el plomo se distribuye en compartimentos (Figura 2); en primer lugar el plomo circula en sangre unido a los glóbulos rojos en un 95%, luego se distribuye a los tejidos blandos como hígado, riñón, médula ósea y sistema nervioso central los cuales son denominados órganos blanco de toxicidad. Entre 1 a 2 meses, el plomo difunde a los huesos donde es inerte y no tóxico. El metal puede mobilizarse del hueso en situaciones como inmovilidad, embarazo, hipertiroidismo, medicaciones y edad avanzada⁵¹.

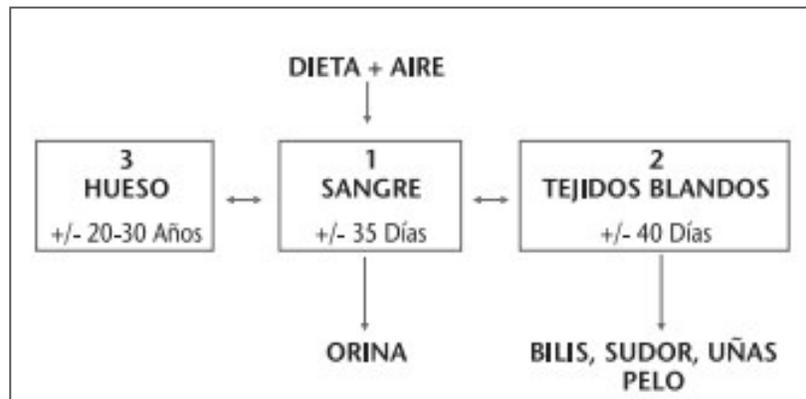


Figura 2. Distribución del plomo, modelo de los tres compartimentos en el organismo humano⁵²

6.5.4.1.4. Toxicodinamia

Este metal interacciona con metales esenciales como Ca, Fe, Zn y Cu compitiendo con ellos o modificando sus concentraciones celulares. Además, inhibe la ATPasa Na/K incrementando la permeabilidad celular, incluyendo la síntesis de ADN, ARN y proteínas⁵³.

El plomo tiene gran afinidad por los grupos sulfhidrilo, en especial por las enzimas dependientes de zinc. El mecanismo de acción es complejo; en primer lugar parece ser que el plomo interfiere con el metabolismo del calcio, sobre todo cuando el metal está en concentraciones bajas, el plomo altera la distribución y las funciones del calcio de las formas siguientes⁴⁹:

- a) Reemplaza al calcio y se comporta como un segundo mensajero intracelular, alterando la distribución del calcio en los compartimentos dentro de la célula.
- b) Activa la proteinquinasa C, una enzima que depende del calcio y que interviene en múltiples procesos intracelulares.
- c) Se une a la calmodulina más ávidamente que el calcio, ésta es una proteína reguladora importante.
- d) Inhibe la bomba de Na/K-ATPasa, lo que aumenta el calcio intracelular.

La alteración a nivel del calcio traería consecuencias en la neurotransmisión y en el tono vascular lo que explicaría en parte la hipertensión y la neurotoxicidad⁴⁹.

Por otro lado, el plomo es tóxico para las enzimas dependientes del zinc. Los órganos más sensibles a la toxicidad son el sistema hematopoyético, el sistema nervioso central y el riñón. Interfiere con la síntesis del Grupo Hem, ya que se une a los grupos sulfhidrilos de las metaloenzimas como son el ácido d-aminolevulínico deshidratasa, coproporfirinógeno oxidasa y la ferroquelatasa (Figura 3); siendo el resultado final, el aumento de las protoporfirinas como la zinc-protoporfirina (ZPP) y la anemia⁵².

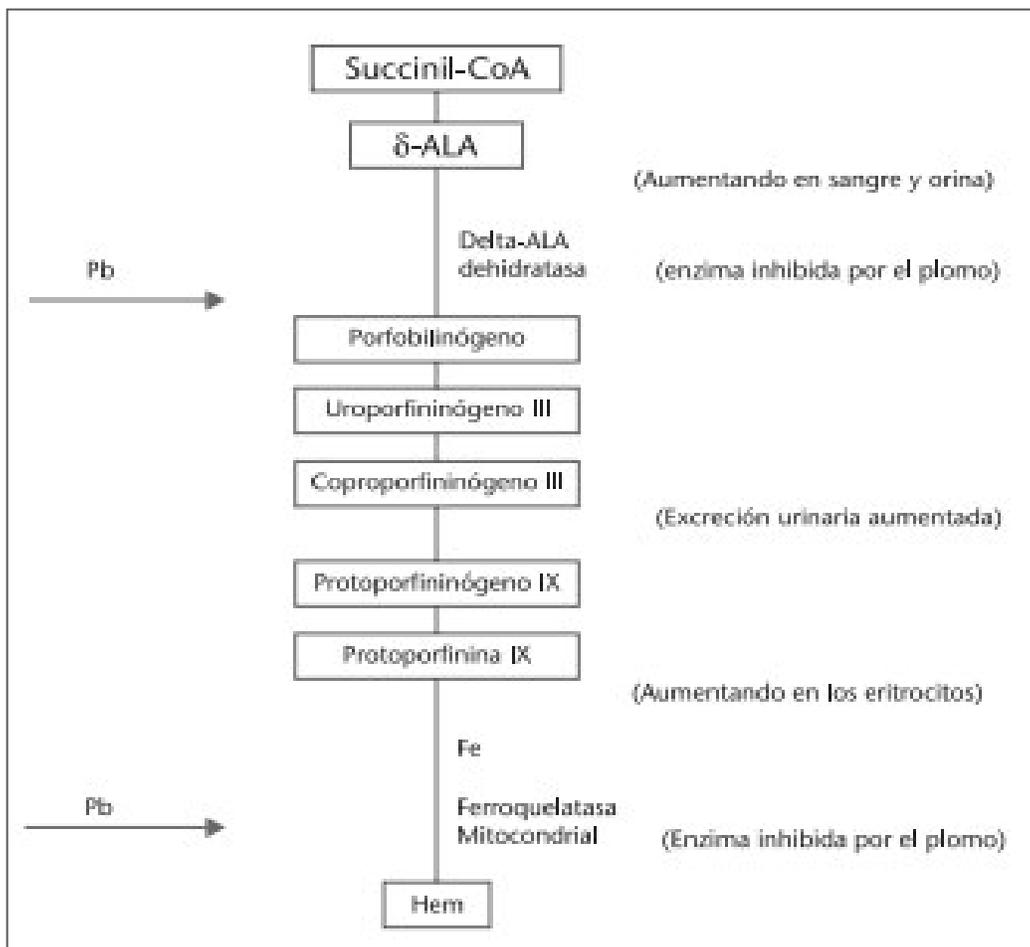


Figura 3. Efectos del plomo en la síntesis del Hem⁵²

A nivel renal interfiere con la conversión de la vitamina D a su forma activa, hay inclusiones intranucleares en los túbulos renales, produce una tubulopatía, que en estadios más avanzados llega a atrofia tubular y fibrosis sin compromiso glomerular, caracterizándose por una proteinuria selectiva. En niños se puede ver un síndrome semejante al de Fanconi, con aminoaciduria, glucosuria, e hipofosfatemia, sobre todo en aquellos con plombemias altas⁵².

Varias funciones del sistema nervioso central están comprometidas, principalmente porque el plomo altera en muchos pasos el metabolismo y función del calcio como explicamos previamente. El plomo se acumula en el

espacio endoneural de los nervios periféricos causando edema, aumento de la presión en dicho espacio y finalmente daño axonal⁵².

Es importante destacar que los signos y síntomas de la intoxicación por plomo orgánico difieren significativamente de los correspondientes a la intoxicación por plomo inorgánico. El plomo tetraetilo y tetrametilo son compuestos liposolubles y se absorben con facilidad por la piel, el TGI (Tracto Gastrointestinal) y los pulmones. Prácticamente todos los efectos tóxicos tienen lugar a nivel del SNC y no suelen presentarse efectos hematológicos de importancia⁵⁴.

Las manifestaciones clínicas de la intoxicación aguda son dolor, cólico, anemia hemolítica, elevación de enzimas hepáticas, encefalopatía aguda y neuropatía⁵⁵.

Las manifestaciones de la intoxicación crónica por plomo son muy variadas, incluyendo alteraciones orales como el Ribete de Burton, manifestaciones gastrointestinales, alteraciones hematológicas (anemia microcítica-hipocrómica), parálisis motoras, encefalopatía, alteraciones renales y cólicos saturninos.

Diferentes estudios epidemiológicos confirman la existencia de una correlación entre niveles de plomo en sangre y cifras aumentadas de tensión arterial⁵⁶. Además, es bien conocido que la intoxicación por plomo conduce a la anemia⁵⁷.

Los principales efectos tóxicos del plomo originan daños sobre el tracto gastrointestinal (“Cólico Saturnino”), nefropatías y daños sobre el SNC y periférico⁵⁸.

El plomo afecta al sistema reproductor humano, tanto masculino como femenino. Además la exposición al plomo es especialmente peligrosa para el

neonato, por dar lugar a nacimientos prematuros, disminución del peso al nacer, e incluso provocar abortos⁵⁹.

A nivel del SNC, parece que los niños son más sensibles a la encefalopatía saturnina. Sufren disminución del cociente intelectual, retrasos en el desarrollo y problemas de audición⁵⁹.

6.5.4.1.5. Tratamiento

Como medida inicial se procederá a evitar el contacto del paciente con la fuente de contaminación por plomo para evitar futuras exposiciones.

En casos de intoxicación aguda por ingestión se procederá a la evacuación mediante el lavado gástrico; se administrará carbón activo y un laxante salino del tipo sulfato sódico. El tratamiento quelante que se suele utilizar, siempre y cuando el paciente no presente alteraciones renales, es el EDTA cálcico disódico a dosis de 2 g al día, diluido en un litro de suero glucosado al 5 %, durante 5 días, para seguir con 1 g dos veces por semana, hasta la total recuperación del intoxicado. Otra pauta de tratamiento es administrar 50 mg/kg/día EDTA cálcico disódico durante 7 días.

En casos graves se recomienda administrar previamente al EDTA cálcico disódico (cuatro horas antes) una dosis de 4 mg/kg, por vía intramuscular profunda, de **dimercaprol (BAL)**. En casos de encefalopatía saturnina se administrará simultáneamente EDTA y BAL.

El **BAL** extrae el plomo acumulado en los depósitos del sistema nervioso central; el EDTA cálcico disódico quela el plomo de la sangre, pero no el de los depósitos. La dosis de **BAL** será: 3 - 5 mg/kg, vía intramuscular, cada 4 horas durante 2 días, después cada 4 - 6 horas otros 2 días, luego cada 6 - 8 horas por 2 días más y finalmente cada 8 - 12 horas durante 2 días. Cuando se administra el quelante desciende la plumbemia, al principio, pero al haber una redistribución del plomo desde los depósitos hacia la

sangre, se produce una nueva elevación de la plumbemia que volverá a descender si se continúa con el tratamiento. Como segunda elección se puede utilizar D-penicilamina: 1 g/día (250 mg cuatro veces al día) durante varias semanas o, bien, hasta 40 mg/kg/día. La D-penicilamina está contraindicada en pacientes alérgicos a la penicilina⁶⁰⁻⁶².

Recientemente, algunos autores utilizan como quelante el **ácido dimercaptosuccínico (DMSA)**. La dosis pediátrica inicial de **DMSA** es de 10 mg/kg, vía oral, cada 8 horas durante 5 días, después cada 12 horas durante 2 semanas. Junto al quelante se debe mantener una diuresis forzada precoz para prevenir la insuficiencia renal y para eliminar el complejo antídoto-plomo. En caso de que disminuya el flujo urinario debe hacerse hemodiálisis o diálisis peritoneal precoz; si hay gran hemólisis se realizará plasmaféresis. Para tratar los cólicos saturninos se administra clorpromazina. Controlar la respiración y demás constantes y hacer tratamiento sintomático. Tratar el edema cerebral con ventilación, manitol y dexametasona, y para las convulsiones administrar diazepam. En casos de inhalación se procederá a separar al paciente de la fuente de exposición. El tratamiento quelante y sintomático que se precisa es igual que en la intoxicación por vía digestiva⁶⁰⁻⁶².

6.5.4.1.6. Regulación de niveles de plomo en cosméticos:

- **FDA**

Hasta antes de diciembre del 2016 la FDA sólo consideraba la cantidad de plomo presente como impurezas en los aditivos de color usados en la elaboración de cosméticos la cual se había fijado en 20 ppm. Actualmente, **la FDA ha establecido un límite máximo de plomo de 10 ppm en cosméticos**; esta medida busca asegurar que los productos cosméticos labiales y los cosméticos aplicados externamente no

contengan plomo como una impureza en niveles que representen un riesgo para la salud (Anexo 4).

- **Comisión Europea**

Las leyes de la Unión Europea prohíben el uso de plomo y sus compuestos en la elaboración de cosméticos tal como lo señala la Directiva 76/768/CEE (1976) y sus sucesivas modificaciones las cuales se sintetizan y reestructuran en el Reglamento (CE) N° 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo (Anexo II: Lista de sustancias prohibidas en productos cosméticos). Sin embargo, mencionan también que son inevitables trazas de plomo bajo condiciones de buena práctica de manufactura⁴¹.

- **OMS⁴⁴**

La Organización Mundial de la Salud establece que el ***límite de plomo permisible en cosméticos no debe exceder los 10 ppm.***

- **Legislación Peruana**

En el Perú, al día de hoy, ***no existe norma alguna que restrinja la presencia de plomo en productos cosméticos.*** En agosto del 2010 hubo un amago para reglamentar la cantidad de plomo en cosméticos, elevándose al ejecutivo el proyecto de Ley 4265/2010-CR que proponía establecer la eliminación y/o reducción de plomo y otros metales pesados en productos destinados al uso o consumo humano como por ejemplo: productos estéticos (esmaltes, tintes, maquillaje, aretes, cremas), productos lúdicos de niños, dulces, utensilios de cocina y la soldadura de latas de alimentos. Asimismo, este proyecto de Ley resaltaba la importancia de realizar los controles toxicológicos además del registro de la concentración de plomo en el etiquetado de estos productos⁴⁶.

VII. PARTE EXPERIMENTAL

7.1. Materiales

7.1.1. Materiales usados en el análisis microbiológico:

- Algodón
- Frascos de vidrio con tapa rosca (250 mL, 500 mL)
- Pipetas volumétricas estériles (2 mL, 5mL ,10 mL)
- Placas Petri de plástico estériles de 15 x 100 mm
- Viales con tapa de goma, estériles
- Espátula
- Tubos de ensayo con tapa rosca 16 x 150 mm
- Micropipeta (de 10-1000 µL)
- Tips de plástico estériles (1 mL)
- Espátula de Drigalsky
- Probeta de vidrio de 100 mL

7.1.2. Materiales usados en el análisis toxicológico:

- Fiolas de 10 mL, 25 mL y 100 mL clase A
- Pipetas de 5 mL y 10 mL, clase A
- Probetas de 10 mL
- Vaso de precipitado 150 mL
- Lunas de reloj
- Papel de filtrado de celulosa Whatman Nro. 40.
- Balón de Argón, 99.999% de pureza
- Embudos de líquidos

7.2. Equipos:

7.2.1. Equipos empleados en el análisis microbiológico:

- Balanza analítica XP-300 - Denver Instrument
- Incubadora Incucell - MMM Group
- Autoclave MC-30L/LDP - ALP Co., Ltd.
- Refrigeradora Coldex
- Horno microondas Royal
- Horno de esterilización Ecocell
- Cocinilla eléctrica

7.2.2. Equipos empleados en el análisis toxicológico:

- Equipo de absorción atómica SHIMADZU AA-6800
- Horno de grafito GFA-EX7
- Inyector automático, Autosampler ASC-6100
- Computadora
- Plancha térmica
- Balanza analítica

7.3. Diseño experimental:

Observacional, analítico, transversal y prospectivo.

7.4. Población y muestra:

- Población: pinturas faciales infantiles (maquillaje artístico) comercializadas en las galerías Santa Catalina del Mercado Central de Lima en el mes de setiembre del año 2015.
- Tamaño de la muestra: 5 pinturas faciales infantiles de cada una de las 5 marcas recolectadas. 25 muestras en total.
- Método de muestreo: simple al azar.

7.5. Nomenclatura de las muestras:

XMnBb

Donde:

- X: Letra asignada a la marca
- M: Muestra
- n: Número de muestra analizada
- Bb: Color de la pintura

- **Colores de las pinturas faciales infantiles:**

Blanco (Bl), Verde (Ve), Amarillo (Am), Rojo (Ro), Azul (Az), Negro (Ne)

- **Muestras evaluadas:**

M1, M2, M3,..., M25

Ejemplo: DM19Ro, corresponde a la muestra 19 de color rojo perteneciente a la marca D.

7.6. Análisis Microbiológico

7.6.1. Reactivos:

- Etanol 70 %
- Tween 80
- Glicerina
- Ácido tartárico 10 %
- Agua destilada
- Solución salina 0,9 %

7.6.2. Medios de cultivo:

- Agar papa dextrosa (PDA) de Merck KGaA
- Agar Lethen modificado (MLA) de Merck KGaA
- Caldo Lethen modificado (MLB) de Merck KGaA
- Agar Manitol Salado de Merck KGaA
- Agar Mac Conkey de Merck KGaA
- Agar Cetrimide de Merck KGaA
- Agar Dextrosa Saboraud 4 % (SDA) de Merck KGaA

7.6.3. Técnica:

Se utilizó una adaptación de la técnica descrita por el Manual de Bacteriología Analítica (BAM)²².

7.6.3.1. Manipulación de las muestras:

Las muestras obtenidas se almacenaron a temperatura ambiente; luego se procedió con una cuidadosa inspección antes de abrirlos; y se anotaron las irregularidades que pudieran presentar los empaques, así como la información contenida en los rotulados.

Antes de abrir el cosmético se desinfectó la superficie del recipiente con etanol al 70 % y se procedió a pesar 1 g de la muestra en un envase estéril (vial).



Figura 4. Proceso de manipulación y pesada de una muestra

7.6.3.2. Preparación preliminar de las muestras (diluciones):

En tubos de ensayo con tapa rosca se mezcló 1 g de las muestras con 1 mL de Tween 80 y 8 mL de caldo MLB. Se procedió a agitar hasta lograr una suspensión homogénea obteniéndose la dilución 10^{-1} . De esta última, se tomó 1 mL y se añadió a otro tubo de ensayo con 1 mL de Tween 80 y 8 mL de caldo MLB y se agitó hasta lograr una suspensión homogénea dando como resultado la dilución 10^{-2} . Se procedió de esta manera hasta obtener la dilución 10^{-6} .



Figura 5. Preparación de diluciones seriadas (10^{-1} a 10^{-6}) para una muestra

7.6.3.3. Evaluación microbiológica:

7.6.3.3.1. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales

Se fundamenta en el crecimiento de colonias de microorganismos en un medio de cultivo en placa. Por lo tanto, se determinan por este método sólo las células microbianas viables en las condiciones de trabajo. La prueba permite conocer el número total de microorganismos aerobios mesófilos por unidad de volumen (mL) o gramos (g) y los resultados se expresan en UFC (unidades formadoras de colonias- área de células de microorganismos que pueden verse a simple vista y que se origina a partir de una célula simple)²².

- **Recuento en placa por extensión:**

Se inoculó 0,1 mL de cada dilución en placas Petri duplicadas que contenían agar MLA, previamente preparadas y rotuladas para las diluciones 10^{-1} a 10^{-6} . Se procedió a realizar la extensión de la muestra en el medio sólido haciendo uso de la espátula de Drigalsky previamente esterilizada por inmersión en etanol al 70 % y rápidamente flameada para eliminar el etanol. Se esperó por lo menos 30 minutos a que el inóculo sea absorbido por el medio. Se invirtieron las placas y se incubaron a 35 ± 2 °C por 48 h.

Adicionalmente, se utilizaron placas testigo (por duplicado) de agar MLA para descartar que el medio MLB utilizado se encuentre contaminado e interfiera en la lectura de resultados. Se procedió con ellas de igual manera que con las diluciones trabajadas a excepción de que el inóculo solo era caldo MLB.

- **Lectura de resultados:**

Se realizó el conteo del número de unidades formadoras de colonias (UFC) que se desarrolla en cada placa. Tomando en cuenta cada dilución por muestra, se hizo un promedio de los recuentos obtenidos en las dos placas, se multiplicó por 10, luego por el factor de dilución y se reportó el número de unidades formadoras de colonias por g de muestra (UFC/g), interpretándose de la siguiente manera:

$$C = n \times 10 \times f$$

- ✓ C: UFC/g
- ✓ n: promedio del recuento entre las dos placas
- ✓ 10: se considera esta constante porque se incorpora 0,1 mL de cada dilución
- ✓ f: inversa del factor de dilución.

7.6.3.3.2. Recuento de mohos y levaduras

Permite la determinación del número de mohos y levaduras presentes en una muestra mediante el crecimiento de colonias características en un medio de cultivo específico. Los resultados se expresan en UFC (unidades formadoras de colonias) por unidad de volumen (mL) o gramos (g) de muestra²².

- **Recuento en placa por extensión:**

Se inoculó 0,1 mL de cada dilución en placas Petri duplicadas que contenían agar PDA, previamente preparadas y rotuladas para las diluciones 10^{-1} a 10^{-6} . Se procedió a realizar la extensión de la muestra en el medio sólido haciendo uso de la espátula de Drigalsky previamente esterilizada por inmersión en etanol al 70 % y rápidamente flameada para eliminar el etanol. Se esperó por lo menos 30 minutos a que el inóculo sea absorbido por el medio. Se invirtieron las placas y se incubaron a 35 ± 2 °C por 7 días.

Adicionalmente, se utilizaron placas testigo (por duplicado) de agar PDA para descartar que el medio MLB utilizado se encuentre contaminado e interfiera en la lectura de resultados. Se procedió con ellas de igual manera que con las diluciones trabajadas a excepción de que el inóculo solo era caldo MLB.

- **Lectura de resultados:**

Se realizó el conteo del número de unidades formadoras de colonias (UFC) que se desarrolla en cada placa. Se hizo un promedio de los resultados, se multiplicó por 10, por el factor de dilución y se reportó el número de unidades formadoras de colonias por g de muestra (UFC/g).



Figura 6. Esquema de la preparación preliminar de las muestras y los recuentos

7.6.3.3.3. Pruebas de promoción de crecimiento de los medios de cultivo

Debido a los resultados obtenidos después de la siembra en los medios Agar Lethen Modificado (MLA) y Agar Papa Dextrosa (PDA) y posterior incubación se procedió con las pruebas de promoción de crecimiento cuyo propósito es asegurar las propiedades nutritivas las cuales están vinculadas directamente con la idoneidad o aptitud de los medios de cultivo. Esto se logra mediante pruebas de desafío que consisten en inocular un número pequeño de unidades formadoras de colonias (UFC) de microorganismos (m.o.) en los medios de cultivo con los cuales se está trabajando.

- **Primera prueba de promoción de crecimiento**

En esta prueba se realizó una siembra en agar MLA a partir de colonias aisladas de *S. aureus*. La muestra inicial fue diluida en solución salina 0,9 % (S.S) y se agitó para lograr una homogenización. De esta dilución se tomó la muestra la cual fue sembrada por estrías en placas de agar MLA que se incubaron a una temperatura de 35 ± 2 °C durante 48 h.

- **Escala de McFarland**

Los patrones McFarland se utilizan como patrones de turbidez en la preparación de suspensiones de microorganismos. El patrón 0,5 de McFarland tiene una aplicación especial en la aplicación de inóculos bacterianos para la realización de pruebas de sensibilidad antimicrobianas.

Uno de los primeros usos de la turbidez para el cálculo de poblaciones bacterianas fue en la preparación de vacunas⁶³. En 1907 McFarland desarrollo una serie de soluciones de sulfato de bario para calcular aproximadamente el número de bacterias en soluciones de turbidez equivalente, según lo determinado por los recuentos en placa⁶⁴⁻⁶⁵.

La realización de pruebas de sensibilidad requiere el uso de inóculos estándar. El patrón 0,5 de McFarland se utiliza para la preparación de inóculos en dilución de agar estandarizado, procedimientos de macro y microdilución de caldo, de difusión en disco y pruebas de sensibilidad para organismos anaerobios⁶⁶⁻⁶⁸.

Las normas de turbidez se preparan mezclando productos químicos que generan precipitación para formar una solución de turbidez reproducible⁶⁵. Los patrones de McFarland se preparan añadiendo ácido sulfúrico a una solución acuosa de cloruro de bario que produce la formación de un precipitado de sulfato de bario suspendido.

El patrón 0,5 de McFarland corresponde aproximadamente a una suspensión homogénea de *Escherichia coli* de $1,5 \times 10^8$ células por mL⁶⁵.

- **Primera Escala de McFarland**

Primero se tomó una muestra de las placas con crecimiento de *S. aureus* (**1°Prueba de promoción de crecimiento**) y se diluyó en solución salina 0,9 % (S.S) hasta obtener una turbidez semejante al tubo 0,5 de la escala McFarland lo que equivale a una concentración de m.o. ($[] = 1,5 \times 10^8$ cel/mL. De este tubo inicial se tomó 0,1 mL y se añadió a 4,9 mL de S.S lo que resultó en una $[] = 0,3 \times 10^7$ cel/mL (tubo 1); del tubo 1 se tomó 0,1 mL y se añadió a 4,9 mL de S.S lo que resultó en una $[] = 6 \times 10^4$ cel/mL (tubo 2); del tubo 2 se tomó 0,5 mL y se añadió a 4,5 mL de S.S lo que resultó en una $[] = 6 \times 10^3$ cel/mL (tubo 3).

Finalmente, del tubo 3 se tomó una muestra de 1 mL y se añadió a 9 mL de MLB obteniéndose una $[] = 6 \times 10^2$ cel/mL (Dilución 10^{-1}), de esta dilución se tomó 1 mL y se volvió a añadir a 9 mL de MLB obteniéndose una $[] = 6 \times 10$ cel/mL (Dilución 10^{-2}).

De ambas diluciones se tomaron 0,1 mL y se sembraron por extensión en placas de MLA (T° de incubación: 35 ± 2 °C; t=48 h).

- **Segunda Escala de McFarland**

Debido a que no se observó crecimiento en las placas anteriores se decidió concentrar 10 veces las diluciones finales para ello se tomó una muestra de las placas con crecimiento de *S. aureus* (**1°Prueba de promoción de crecimiento**) y se diluyó en solución salina 0,9 % (S.S) hasta obtener una turbidez semejante al tubo 0,5 de la escala McFarland lo que equivale a una $[] = 1,5 \times 10^8$ cel/mL. De este tubo inicial se tomó 0,1 mL y se añadió a 4,9 mL de S.S lo que resultó en una $[] = 0,3 \times 10^7$ cel/mL (tubo1); del tubo 1 se tomó 0,1 mL y se añadió a 4,9 mL de S.S lo que resultó en una $[] = 6 \times 10^4$ cel/mL (tubo 2).

Finalmente, del tubo 2 se tomó una muestra de 1 mL y se añadió a 9 mL de MLB obteniéndose una $[] = 6 \times 10^3$ cel/mL (Dilución 10^{-1}), de esta dilución se tomó 1 mL y se volvió a añadir a 9 mL de MLB obteniéndose una $[] = 6 \times 10^2$ cel/mL (Dilución 10^{-2}).

- **Segunda prueba de promoción de crecimiento**

Esta prueba se realizó para comparar las técnicas de sembrado por extensión o por incorporación y para descartar la presencia de inhibidores en el medio MLA que impidan el desarrollo y crecimiento de *S. aureus*.

En esta prueba se tomaron muestras (0,1 mL) de las diluciones (10^{-1} y 10^{-2}) obtenidas a partir de la **segunda escala de McFarland** y se sembraron por extensión e incorporación en placas de MLA (T° de incubación: 35 ± 2 °C; t=48 h).

- **Tercera prueba de promoción de crecimiento**

Esta prueba se realizó para descartar la presencia de inhibidores en el medio MLA que impidan el desarrollo y crecimiento de *E. coli*.

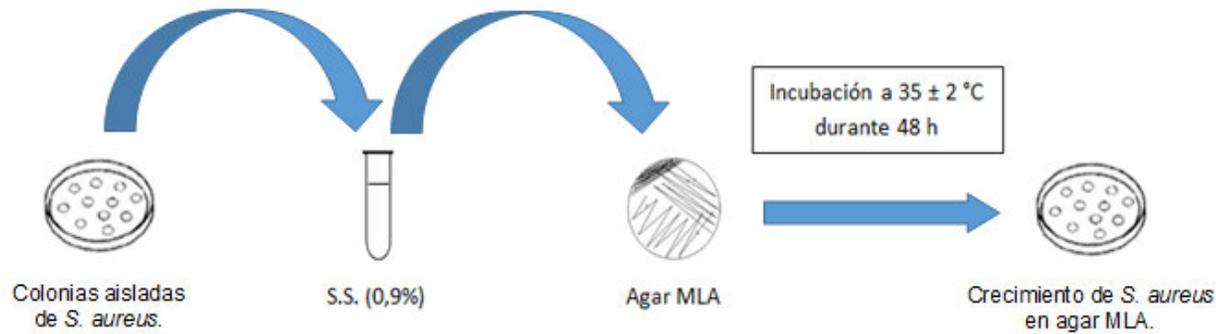
- **Tercera Escala de McFarland**

A partir de colonias aisladas de *E. coli* se inocula una cantidad pequeña en solución salina 0,9% (S.S) hasta que la turbidez de la dilución sea semejante al tubo 0,5 de la escala McFarland. De este tubo inicial se tomó 0,1 mL y se añadió a 4,9 mL de S.S obteniéndose una $[] = 3 \times 10^6$ cel/mL (tubo 1); del tubo 1 se tomó 0,1 mL y se añadió a 4,9 mL de S.S lo que resultó en una $[] = 6 \times 10^4$ cel/mL (tubo 2).

Finalmente, del tubo 2 se tomó una muestra de 1 mL y se añadió a 9 mL de MLB obteniéndose una $[] = 6 \times 10^3$ cel/mL (Dilución 10^{-1}), de esta

dilución se tomó 1 mL y se volvió a añadir a 9 mL de MLB obteniéndose una [] = 6×10^2 cel/mL (Dilución 10^{-2}).

Para esta prueba de promoción de crecimiento se tomaron muestras (0,1 mL) de las diluciones (10^{-1} y 10^{-2}) obtenidas a partir de la **tercera escala de McFarland** y se sembró por extensión en placas MLA (T° de incubación: 35 ± 2 °C; t=48 h).



*** Escala de McFarland**

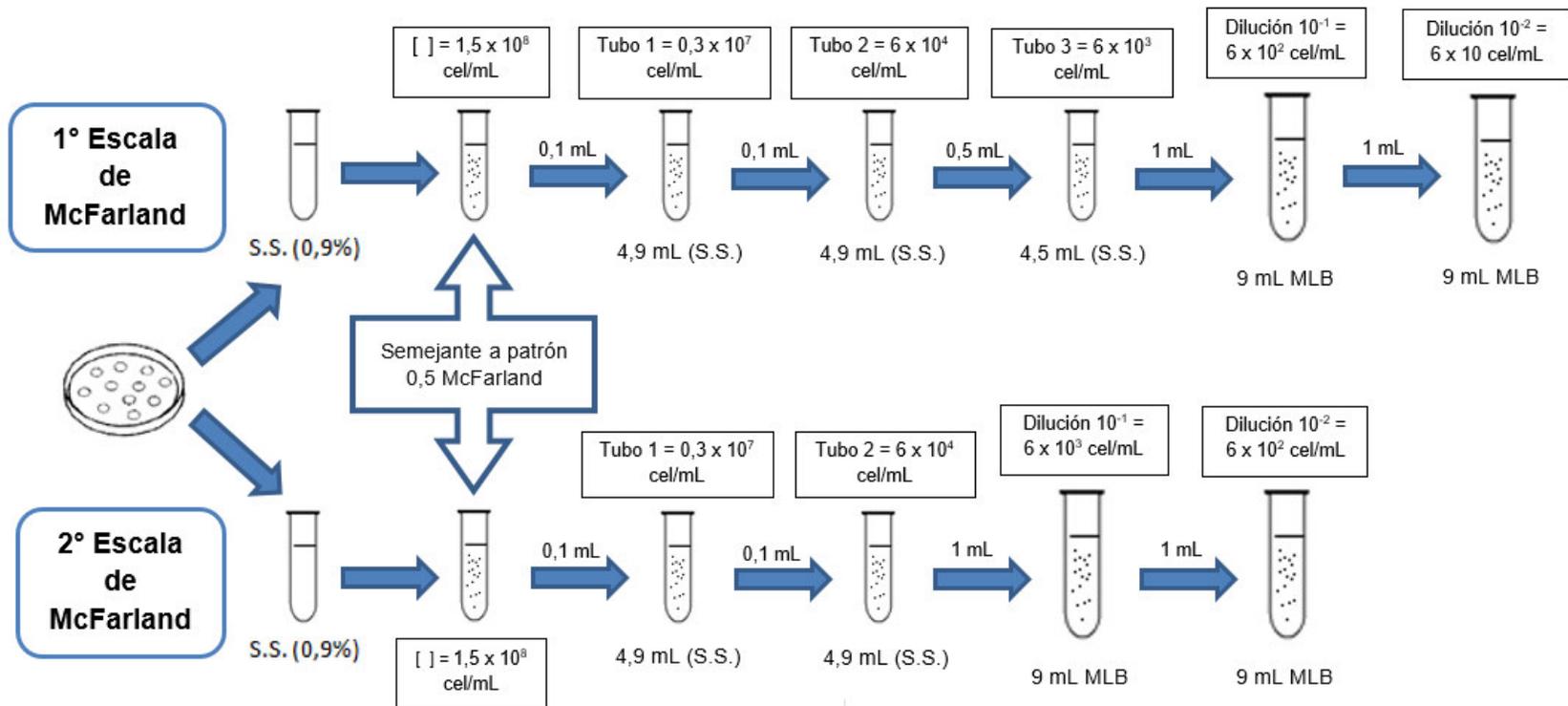


Figura 7. Primera prueba de promoción de crecimiento

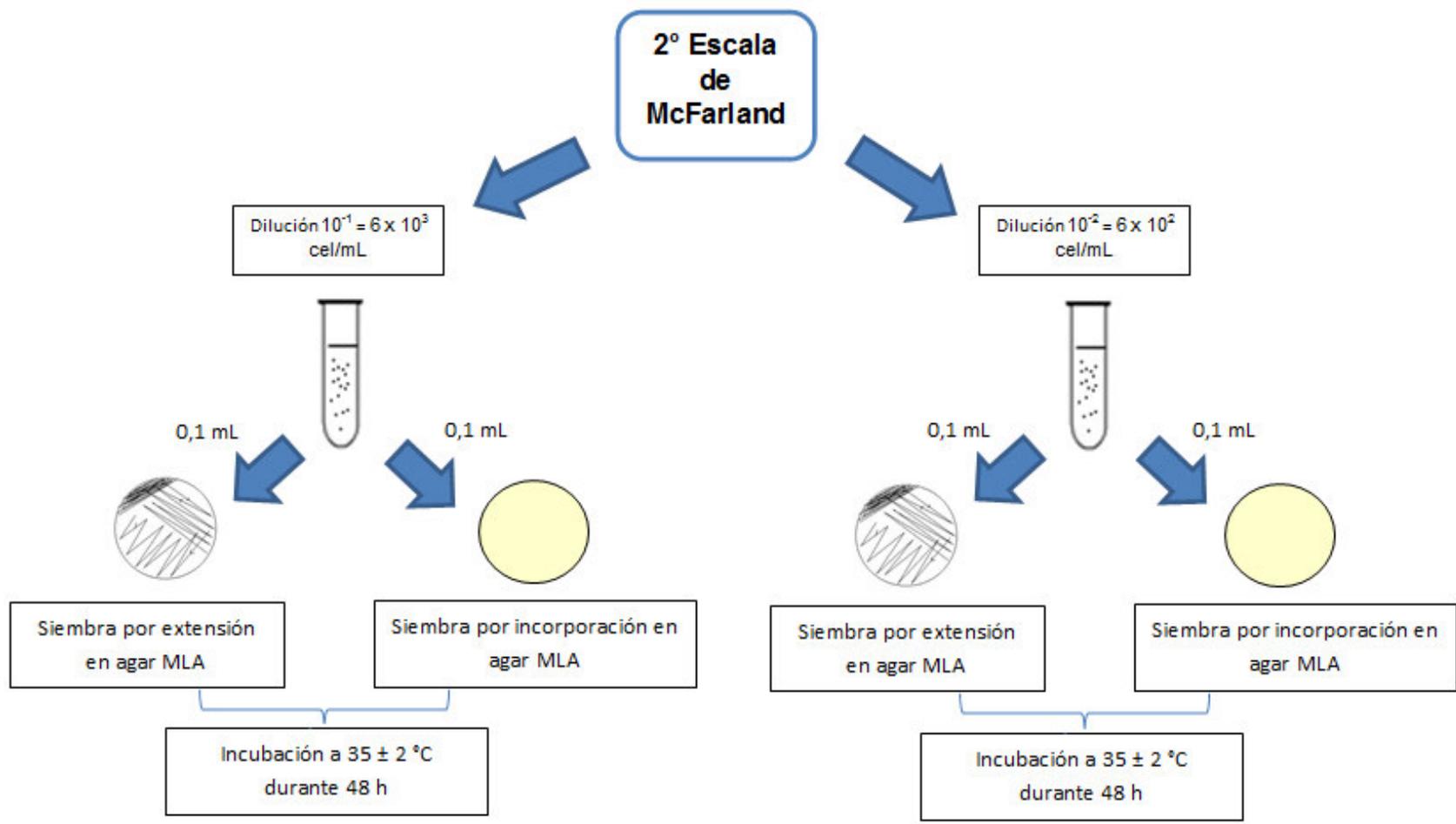


Figura 8. Segunda prueba de promoción de crecimiento

3° Escala de Mc Farland

Colonias aisladas de *E. coli*

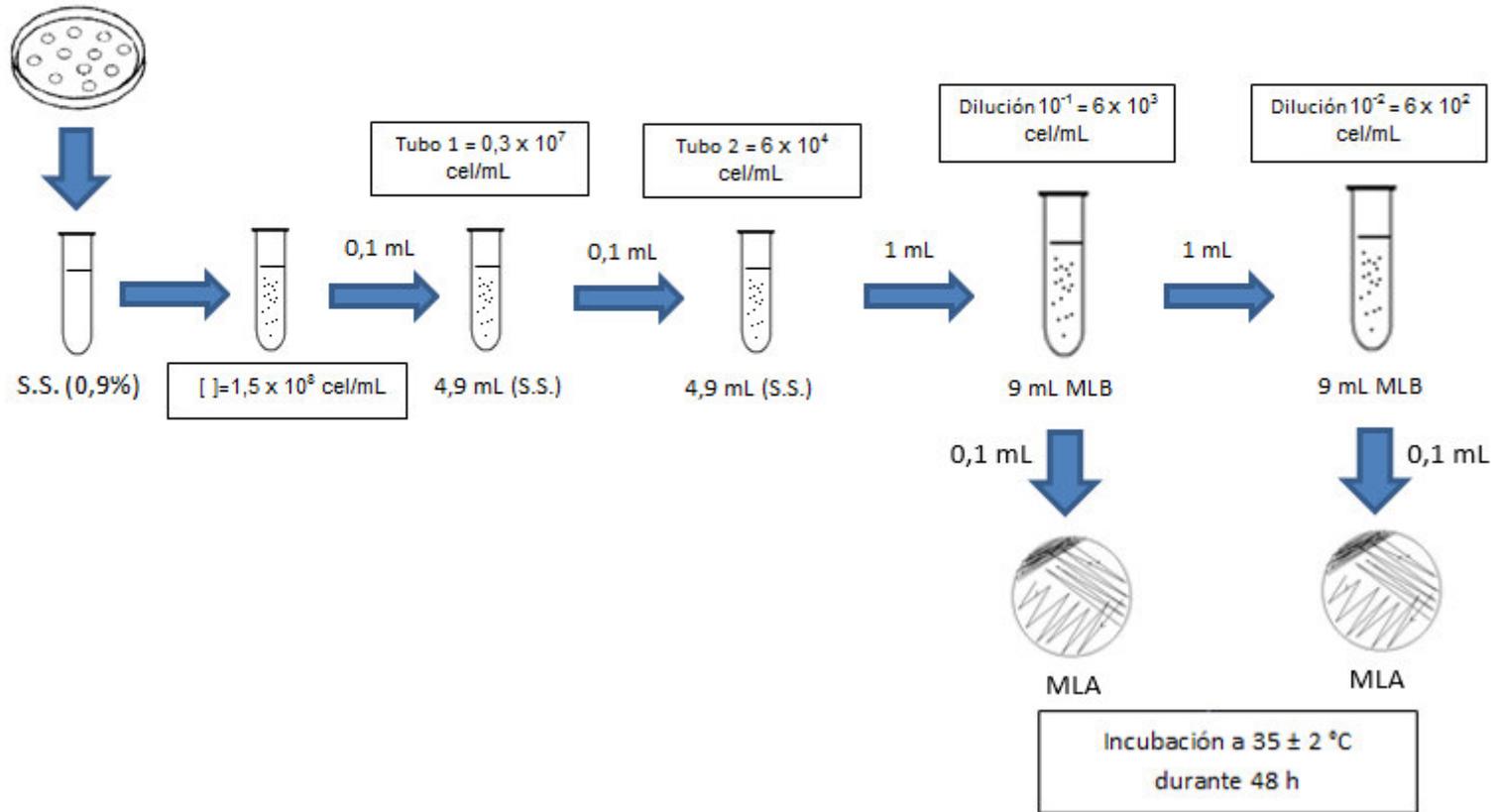


Figura 9. Tercera prueba de promoción de crecimiento

7.6.3.3.4. Identificación de microorganismos

De acuerdo a los resultados obtenidos de los recuentos se procedió a pesar 1 g de cada muestra seleccionada en un envase estéril (vial).

En un tubo de ensayo con tapa rosca se mezcló el gramo de muestra con 1 ml de Tween 80 y 8 mL de caldo MLB y se agitó hasta lograr una suspensión homogénea.

- ***S. aureus:***

Se tomó 1 mL de la dilución y se inoculó a placas Petri por duplicado con agar Manitol Salado. Se realizó la extensión de la muestra en el medio sólido procediendo de la misma manera que en los recuentos.

Se esperó aproximadamente 30 minutos para que el inóculo sea absorbido por el medio. Se invirtieron las placas y se incubaron a 30 °C – 35 °C durante 48 h.

Lectura de resultados:

Se determinó si hubo crecimiento característico de colonias de *S. aureus* que se visualizan como colonias amarillas rodeadas de una zona del mismo color.

- ***P. aeruginosa:***

Se tomó 1 mL de la dilución y se inoculó a placas Petri por duplicado con agar Cetrimide. Se realizó la extensión de la muestra en el medio sólido procediendo de la misma manera que en los recuentos.

Se esperó aproximadamente 30 minutos para que el inóculo sea absorbido por el medio. Se invirtieron las placas y se incubaron a 30 °C – 35 °C durante 48 h.

Lectura de resultados:

El crecimiento característico de colonias *P. aeruginosa* se determinó a través de la formación o no de colonias color verde-azulado, rosa claro, rojizo o marrón.

- ***E. coli:***

Se tomó 1 mL de la dilución y se inoculó a placas Petri por duplicado con agar Mac Conkey. Se realizó la extensión de la muestra en el medio sólido procediendo de la misma manera que en los recuentos.

Se esperó aproximadamente 30 minutos para que el inóculo sea absorbido por el medio. Se invirtieron las placas y se incubaron a 30 °C – 35 °C durante 48 h.

Lectura de resultados:

El crecimiento característico de colonias *E. coli* se determinó a través de la formación o no de colonias color rosado-rojizo con un halo de precipitación biliar.

- ***C. albicans:***

Se tomó 1 mL de la dilución y se inoculó a placas Petri por duplicado con agar Dextrosa Saboraud Se realizó la extensión de la muestra en el medio sólido procediendo de la misma manera que en los recuentos.

Se esperó aproximadamente 30 minutos para que el inóculo sea absorbido por el medio. Se invirtieron las placas y se incubaron a 30 °C – 35 °C durante 7 días.

Lectura de resultados:

El crecimiento característico de colonias *C. albicans* se determinó a través de la formación o no de colonias blandas de color crema con un olor a levadura.

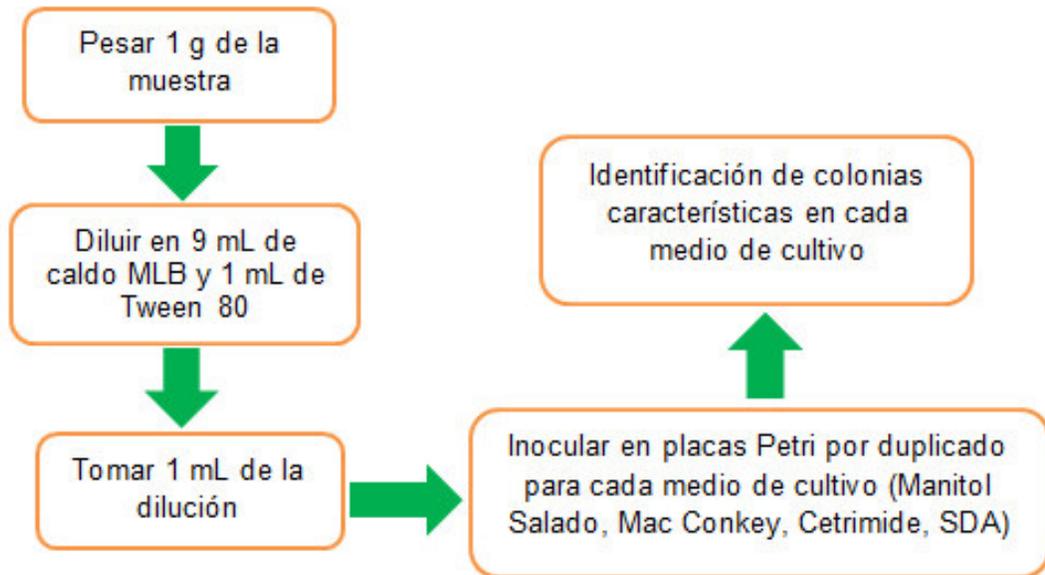


Figura 10. Esquema del procedimiento para identificación de microorganismos patógenos

7.7. Determinación del contenido de plomo

7.7.1. Espectroscopía de Absorción Atómica

La espectroscopia de absorción atómica (AAS por sus siglas en inglés *Atomic Absorption Spectroscopy*), es una técnica extremadamente sensible, y específica debido a que las líneas de absorción atómica son considerablemente estrechas (de 0,002 a 0,005 nm) y las energías de transición electrónica son únicas para cada elemento⁶⁹.

En términos generales, el funcionamiento es el siguiente: el haz emitido por la fuente atraviesa el sistema de atomización que contiene la muestra en estado de gas atómico, ésta llega al monocromador que elimina la radiación que no interesa para el estudio, pasando así al revelador o detector de la radiación absorbida, que luego es procesada y amplificada, dando como resultado una lectura de salida⁷⁰.

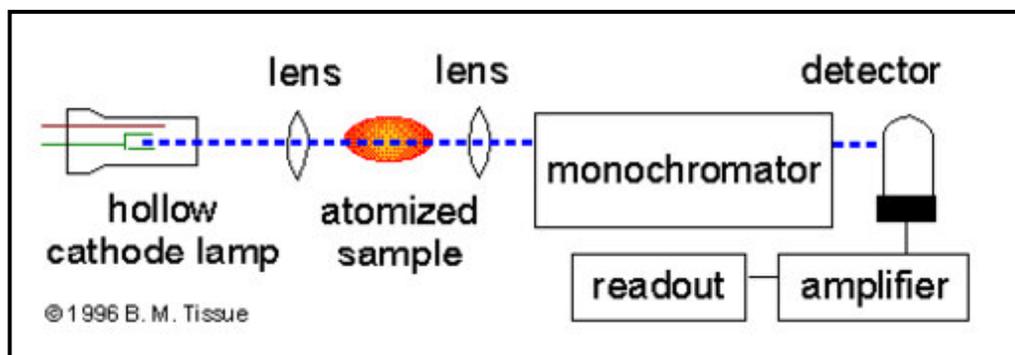


Figura 11. Esquema básico de un espectrómetro de absorción atómica⁷¹

7.7.1.1. Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) en Horno de Grafito

Es una de las formas de EAA de mayor sensibilidad (permite detectar concentraciones hasta 1000 veces inferiores que las detectables con llama), siendo por tanto muy útil en el análisis de ultra-trazas. Otra gran ventaja es

que se requiere muy poca cantidad de muestra (pocos microlitros, normalmente).

La energía requerida para la atomización es obtenida aplicando una diferencia de potencial eléctrico a través de un tubo de grafito dentro del cual ha sido colocada la muestra. El tubo está alineado con la luz procedente de la lámpara espectral. Así, el vapor atómico generado por la muestra cuando el horno está encendido, absorberá luz proveniente de la lámpara del elemento a determinar. En este caso, la señal de absorción es transitoria, en forma de pico, de tal modo que se eleva la concentración y posteriormente cae a medida que los átomos difunden fuera del horno⁷². En el proceso de atomización existen 4 etapas esenciales:

- **Secado:** permite eliminar el disolvente o diluyente
- **Mineralización o Calcinación:** destruye la matriz orgánica
- **Atomización:** consigue llevar los átomos al estado fundamental
- **Barrido o limpieza:** elimina los restos que puedan quedar en el tubo.

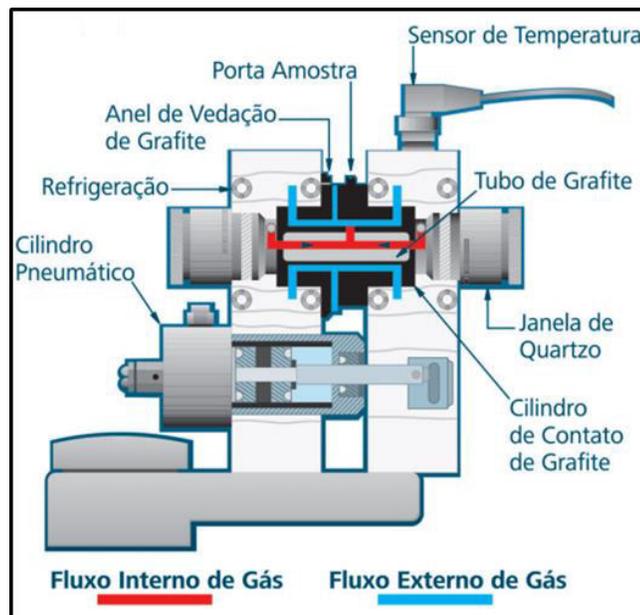


Figura 12. Sistema de obtención de átomos en estado fundamental en EAA con Horno de Grafito⁷³

7.7.1.1.1. Reactivos:

- Estándar certificado de plomo de 1000 mg/L.
- Ácido nítrico (HNO_3) concentrado (al 70%) QP.
- Diluyente: ácido nítrico 0,2 %, medir 2 mL de ácido nítrico concentrado y llevar a una fiola de 1 L, enrasar a la marca con agua desionizada.
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4).
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2).
- Amoníaco (NH_3).
- EDTA 0,1 M.
- Agua desionizada

7.7.1.1.2. Preparación de la muestra:

La muestra (2,5 g; según técnica analítica de la USAQ) se pesa en vasos de precipitado de 150 mL, limpios y secos, se cubre rápidamente con una luna de reloj para evitar que la muestra se oxide y se lleva a la plancha de calentamiento para eliminar solventes volátiles. Se adiciona 5 mL de ácido sulfúrico y se lleva a mayor temperatura, hasta que desprenda humos blancos. Se deja enfriar y se adiciona 16 mL de peróxido de hidrógeno en cuatro porciones. Se lleva a calentar hasta casi sequedad, luego se adiciona 5 mL de peróxido de hidrógeno, se deja enfriar y se repite la adición de peróxido. Se limpia la luna de reloj con agua desionizada, recogiendo el lavado, y se retira del vaso. Se calienta hasta que vuelva a desprender humos blancos, llevando la muestra hasta casi sequedad. Luego se deja enfriar y se añade 25 mL de EDTA 0,1 M, 5 mL de amoníaco y 25 mL de agua desionizada. Se lleva a calentar por 15 minutos y se filtra a fiolas de 100 mL, enrasándolas con agua desionizada. En caso precipiten cristales incoloros de EDTA, se vuelve a filtrar.

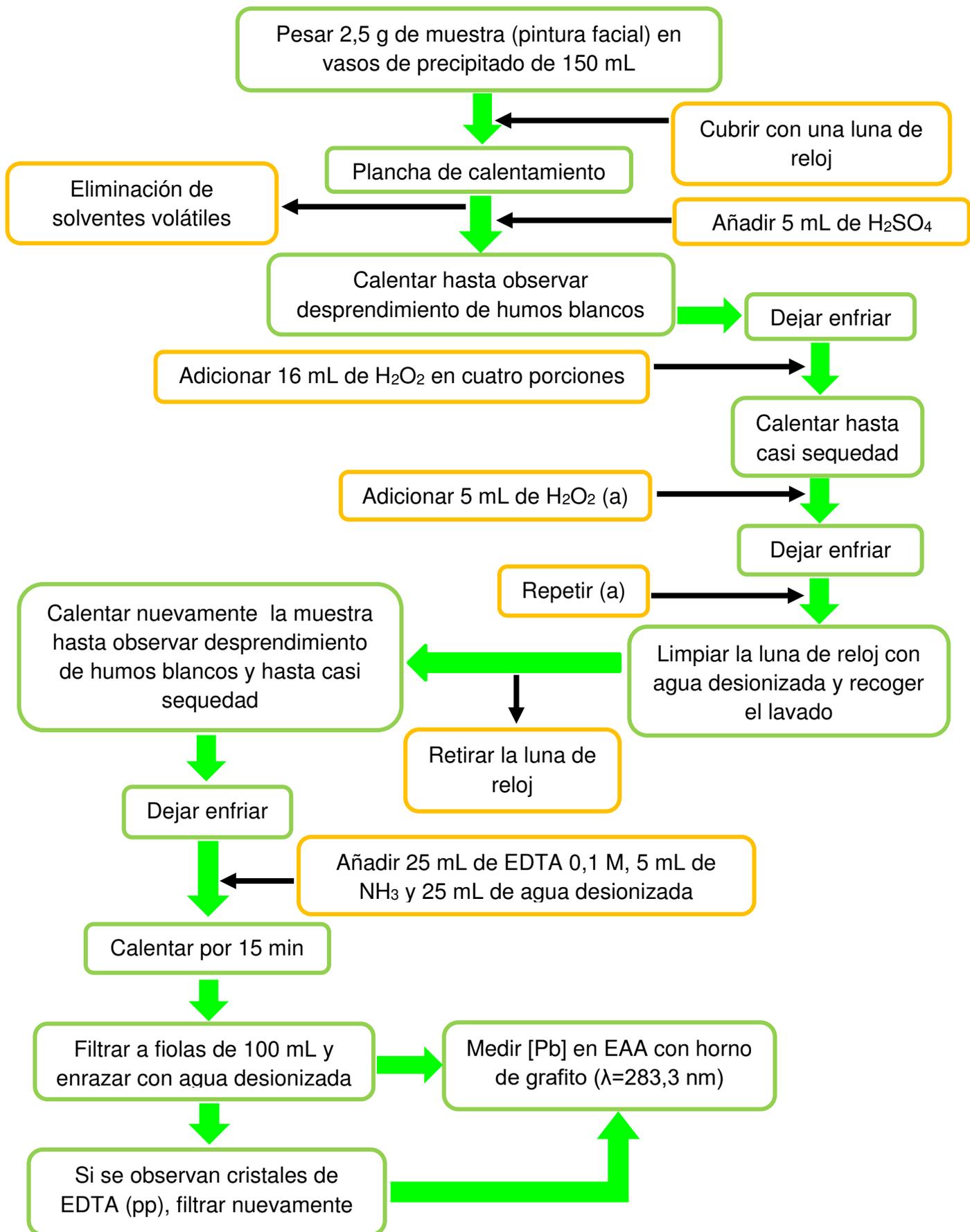


Figura 13. Preparación de muestra para análisis de plomo

7.7.1.1.3. Medición:

Se encendió el equipo de absorción atómica SHIMADZU AA-6800, así como también el horno de grafito 6FA-EX7 con inyector automático (autosampler) y la computadora. Se colocó la lámpara de cátodo hueco de plomo. Luego, siguiendo el procedimiento de operación del horno de grafito GFA-600, se verificó la calibración del instrumento, asegurando el alineamiento del autosampler antes de iniciar la corrida analítica. Usando el control manual del brazo muestreador y sin tocar el borde del hueco se hizo balancear el brazo sobre el tubo de grafito; seguidamente y con ayuda de un espejo dental se verificó que el extremo del capilar se posicionara a 2 mm por encima de la plataforma del tubo.

Luego se colocó en el autosampler, el estándar de trabajo de 20 µg/L, blanco reactivo y las muestras a los viales previamente identificados y enumerados correspondientemente. Programar la calibración automática y chequear la curva de calibración.

- **Preparación de estándares:**

Para preparar un estándar patrón de plomo de 100 mg/L, se midió 10 mL del estándar certificado de 1000 mg/L y se llevó a una fiola de 100 mL, luego se enrasó con agua desionizada. El estándar tiene una duración de 6 meses.

Para el estándar de plomo de 10 mg/L: se midió 10 mL del estándar de 100 mg/L y luego se llevó a una fiola de 100 mL, para enrasar con el diluyente. Este estándar tiene una duración de 3 meses.

Para el estándar de plomo de 1 mg/L: se midió 10 mL del estándar de 10 mg/L y luego se llevó a una fiola de 100 mL, para enrasar con el diluyente. Tiene una duración de 1 semana.

Para el estándar de plomo de 20 µg/L: se midió 2 mL del estándar de 1 mg/L y luego se llevó a una fiola de 100 mL, para enrasar con el diluyente. Se tiene que preparar diariamente.

Los estándares de calibración obtenidos son de 4 µg/µL, 8 µg/L, 12 µg/L, 16 µg/L, 18 µg/L. El equipo prepara automáticamente estos estándares a partir de estándar de 20 µg/L, diluyéndolo con agua desionizada.

Se preparó un blanco de calibración con agua desionizada, siguiendo el procedimiento anterior.

- **Curva de calibración**

Tabla 6. Absorbancia de los patrones de Plomo

Concentración (ppb)	Absorbancia
4,0000	0,0101
8,0000	0,0158
12,000	0,0219
16,000	0,0286
18,000	0,0313

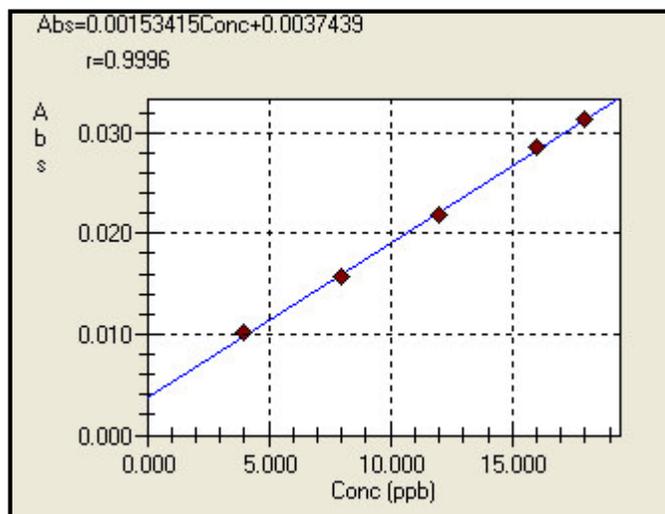


Figura 14. Curva de calibración para cuantificar Pb en pinturas faciales

Programar el análisis de las muestras y constatar los resultados.

- **Condiciones instrumentales**

Las condiciones instrumentales para un análisis de plomo por horno de grafito son:

- ✓ Longitud de onda: 283,3 nm.
- ✓ Slit: 0,5
- ✓ Medida de señal: altura de pico
- ✓ Tubo de grafito con plataforma de alta densidad
- ✓ Volumen de muestra: 20 μ L
- ✓ Temperatura programada del horno de grafito:
 - Temperatura de secado: 120 °C
 - Temperatura de pre tratamiento: 800 °C
 - Temperatura de atomización: 2400 °C
- ✓ Corrección de fondo por lámpara de deuterio

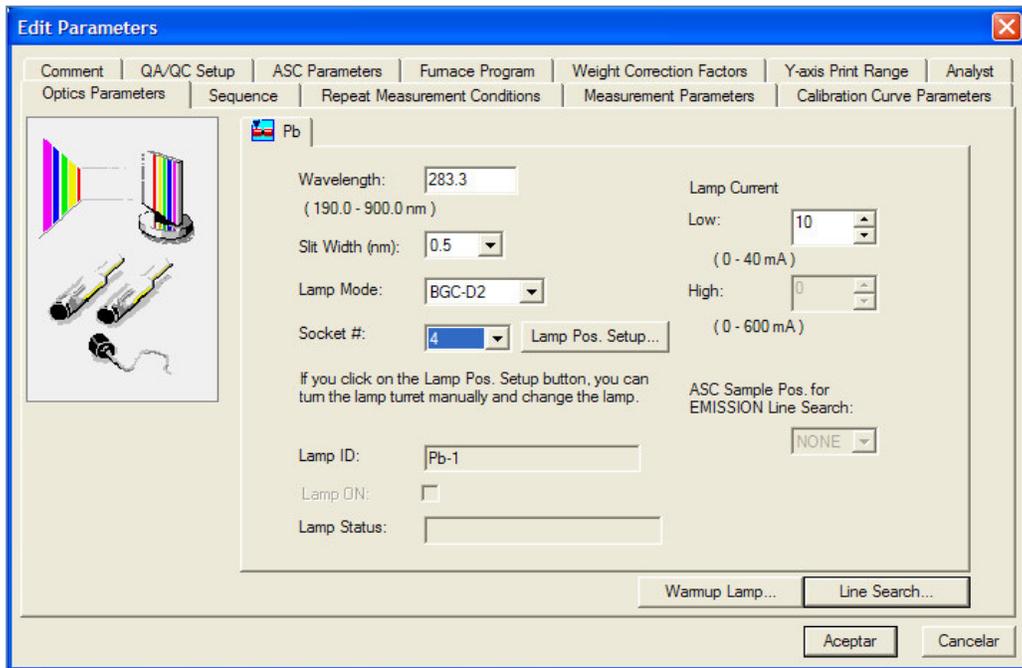


Figura 15. Condiciones ópticas para la medición de Pb por horno de grafito

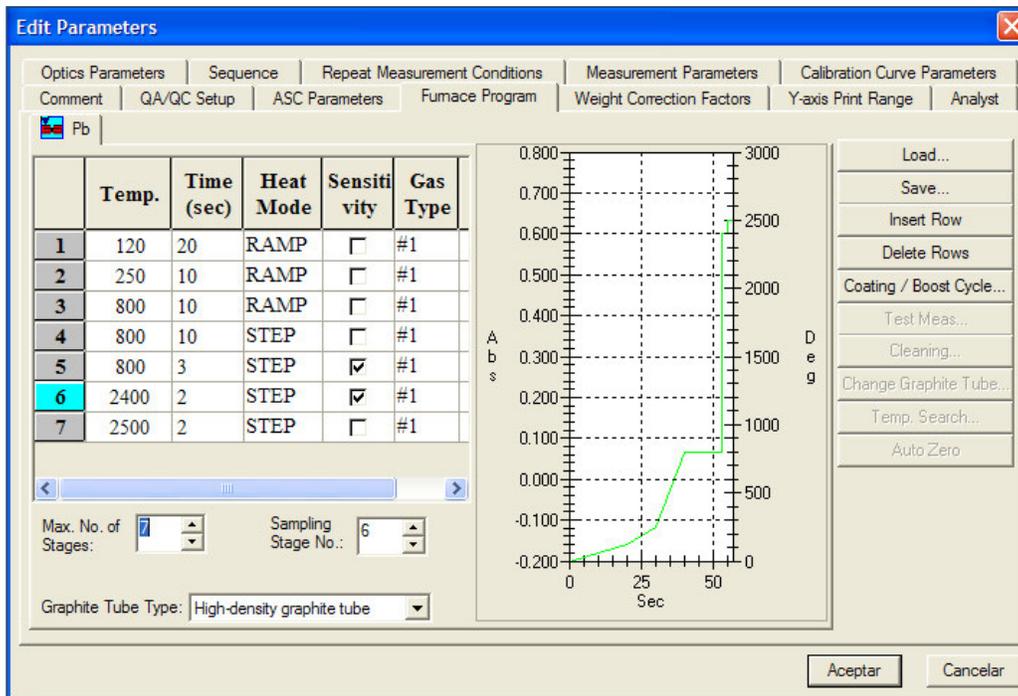


Figura 16. Programa de temperatura para la medición de Pb por horno de grafito

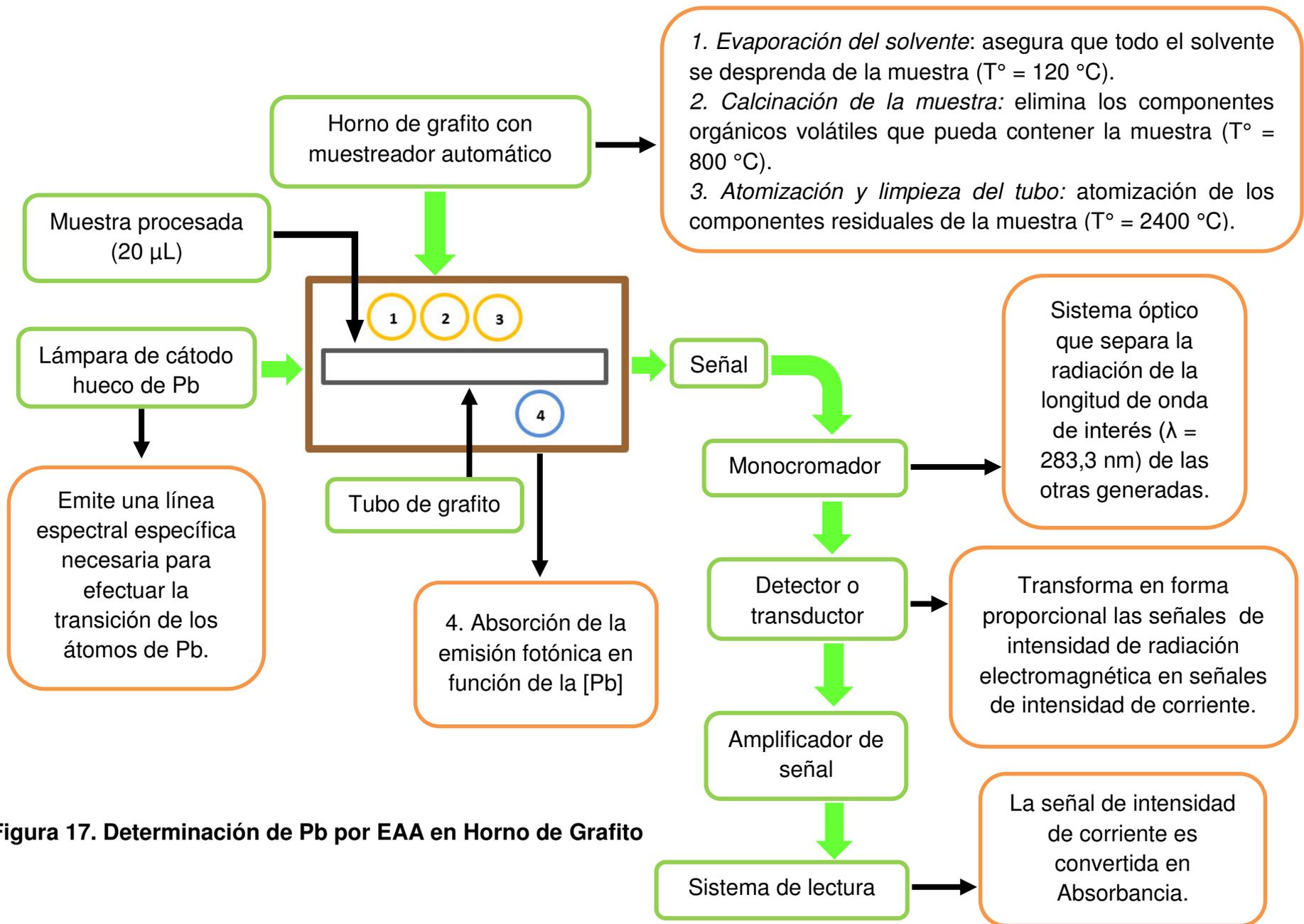


Figura 17. Determinación de Pb por EAA en Horno de Grafito

VIII. RESULTADOS

8.1. Inspección de los rotulados de las muestras (información técnica)

Tabla 7. Información técnica del rotulado por marca de producto

Marca	Razón social del Fabricante	Dirección	N° Registro único de contribuyente (R.U.C)	Director Técnico (D.T.)	Registro Sanitario (N.S.O.)	Presentación
A	ND	ND	ND	ND	ND	Caja x 06 unidades
B	D	D	D	D	D	Estuche plástico x 6 unidades x 8 g
C	D	D	D	ND	D	Caja x 5 unidades
D	D	D	D	D	D	Estuche plástico x 5 unidades x 6 g
E	D	D	D	D	D	Estuche plástico x 5 unidades x 6 g

D: Descrito en el producto terminado.

ND: No descrito en el producto terminado

Tabla 8. Composición de las pinturas faciales detallada en el rotulado por marca de producto

Marca	Componentes
A	ND
B	Aqua, Magnesium aluminum silicate, Aluminum silicate (CI 77004), Glycerin, Zinc oxide, Alcohol, Stearic acid, Lanolin, Isopropyl myristate, Dimethicone, Olive oil propylene glycol esters, Hydroxyethylcellulose, Citric acid, Cetyl alcohol, Glyceryl stearate, Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Iso-butylparaben, BHT, Titanium dioxide (CI 77891), CI 73015, CI 77492, CI 77491, CI 77820, CI 77019.
C	Water, Propylene glycol, Kaolin, Glycerin, Talc, Alcohol, Stearic acid, Lanolin, Isopropyl myristate, Dimethiconol, Ricinus communis seed oil, Calcium carboxymethyl cellulose, Citric acid, Imidazolidinyl urea, Triethanolamine, Cyclopentasiloxane, Xanthan gum, Caprylyl methicone, Parfum (Tutifrutti), BHT, CI 77891, CI 77007, CI 42090, CI 77492, CI 19140, CI 77499.
D	Aqua, Magnesium aluminum silicate, Aluminum silicate (CI 77004), Glycerin, Zinc oxide, Alcohol, Stearic acid, Lanolin, Isopropyl myristate, Dimethicone, Olive oil peg-6 esteres, Hydroxyethylcellulose, Citric acid, Cetyl alcohol, Glyceryl stearate, Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Iso-butylparaben, BHT, Titanium dioxide (CI 77891), CI 72015, CI 77492, CI 77491, CI 77820, CI 77019.
E	Aqua, Magnesium aluminum silicate, Aluminum silicate (CI 77004), Glycerin, Zinc oxide, Alcohol, Stearic acid, Lanolin, Isopropyl myristate, Dimethicone, Olive oil propylene glycol esters, Hydroxyethylcellulose, Citric acid, Cetyl alcohol, Glyceryl stearate, Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Iso-butylparaben, BHT, Titanium dioxide (CI 77891), CI 72015, CI 77492, CI 77491, CI 77820, CI 77019.

ND: N o descrito en el producto terminado.

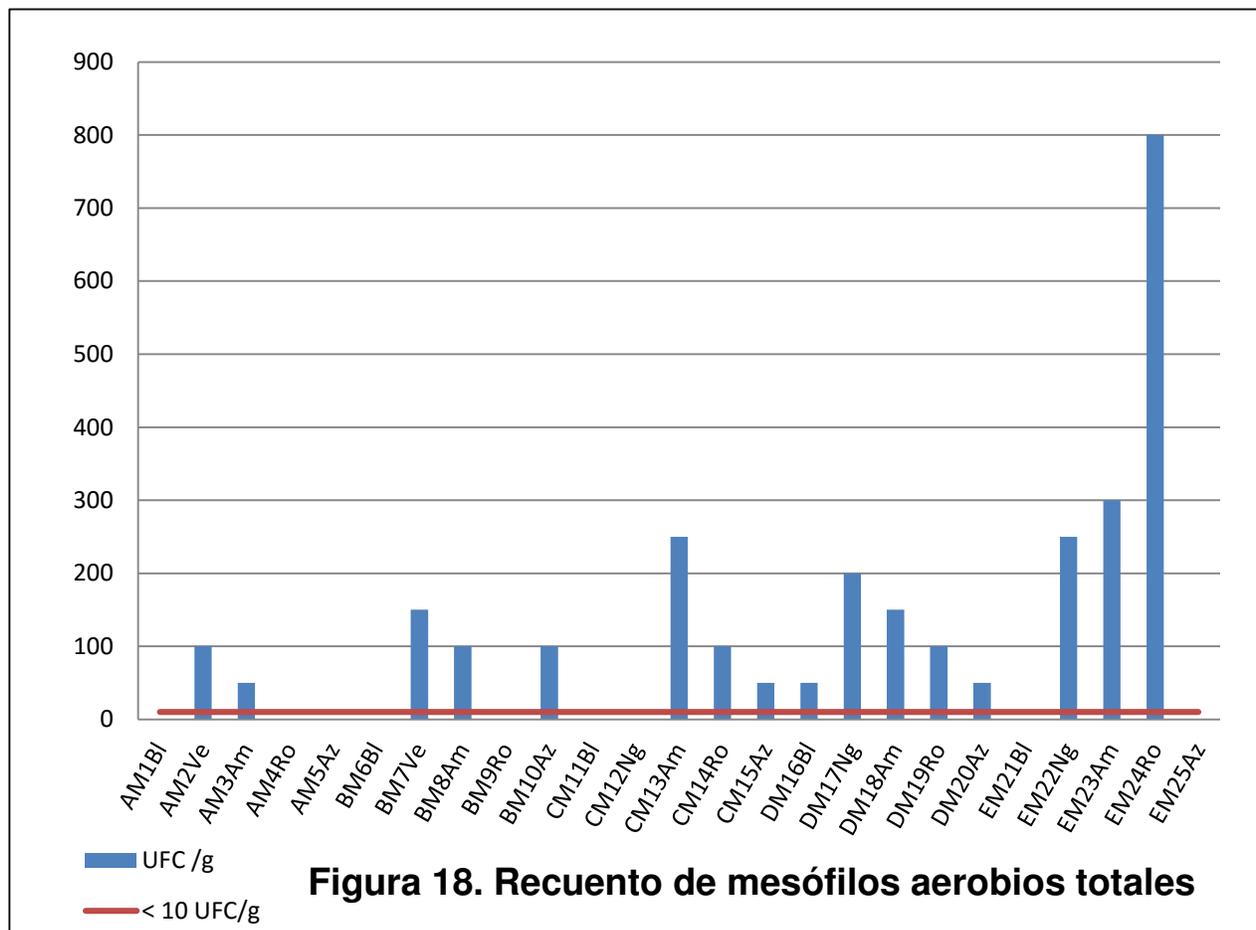
8.2. Análisis Microbiológico

Tabla 9. Resultados del recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales y recuento de mohos y levaduras

MARCA	MUESTRA	CÓDIGO DE MUESTRA	MESÓFILOS AEROBIOS TOTALES	MOHOS Y LEVADURAS
			MLA (Modified Lethen Agar) (35 ± 2°C / 48 h)	PDA (Potato Dextrose Agar) (35 ± 2°C / 7 días)
A	M1	AM1BI	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
	M2	AM2Ve	100 UFC/g	< 10 UFC/g
	M3	AM3Am	50 UFC/g	< 10 UFC/g
	M4	AM4Ro	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
	M5	AM5Az	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
B	M6	BM6BI	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
	M7	BM7Ve	150 UFC/g	< 10 UFC/g
	M8	BM8Am	100 UFC/g	100 UFC/g
	M9	BM9Ro	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
	M10	BM10Az	100 UFC/g	< 10 UFC/g
C	M11	CM11BI	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
	M12	CM12Ng	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
	M13	CM13Am	250 UFC/g	100 UFC/g
	M14	CM14Ro	100 UFC/g	< 10 UFC/g
	M15	CM15Az	50 UFC/g	< 10 UFC/g
D	M16	DM16BI	50 UFC/g	< 10 UFC/g
	M17	DM17Ng	200 UFC/g	< 10 UFC/g
	M18	DM18Am	150 UFC/g	< 10 UFC/g
	M19	DM19Ro	100 UFC/g	< 10 UFC/g
	M20	DM20Az	50 UFC/g	< 10 UFC/g
E	M21	EM21BI	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g
	M22	EM22Ng	250 UFC/g	< 10 UFC/g
	M23	EM23Am	300 UFC/g	< 10 UFC/g
	M24	EM24Ro	800 UFC/g	< 10 UFC/g
	M25	EM25Az	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g

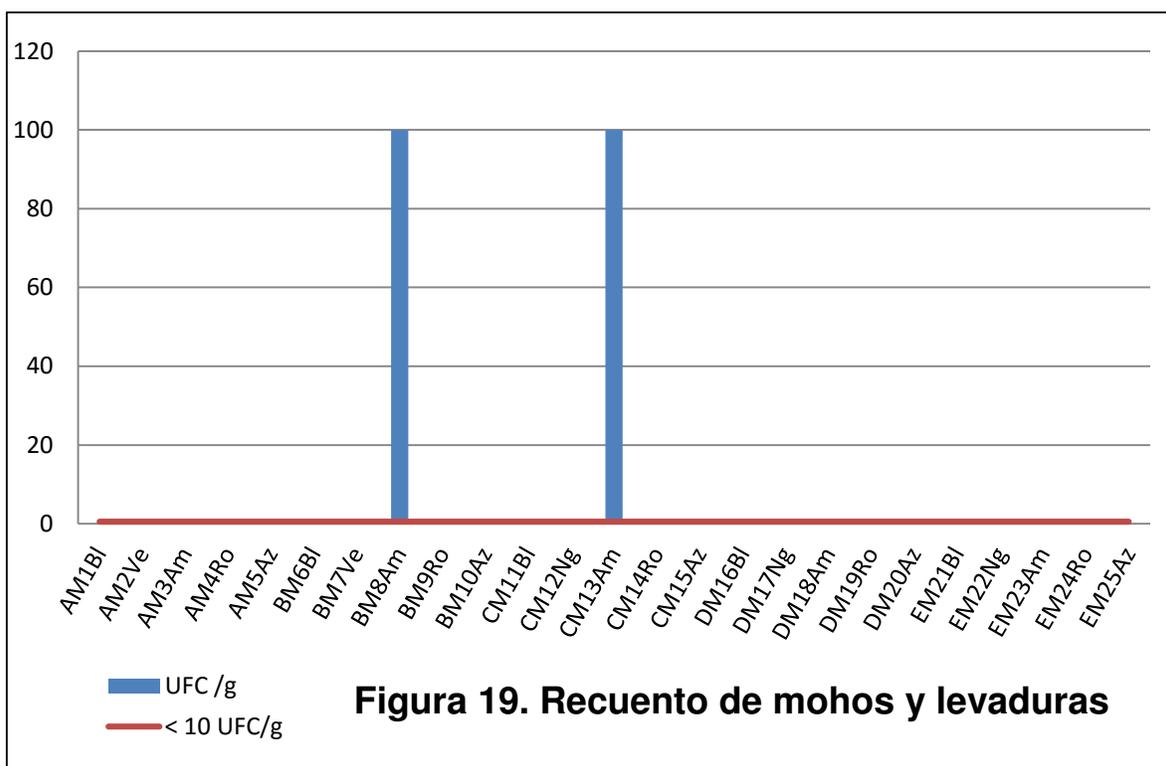
8.2.1. Recuento de mesófilos aerobios totales

En la Figura 18, se ilustra el recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales por cada una de las muestras analizadas. A partir de ella se observa que la muestra EM24Ro presenta el mayor recuento.



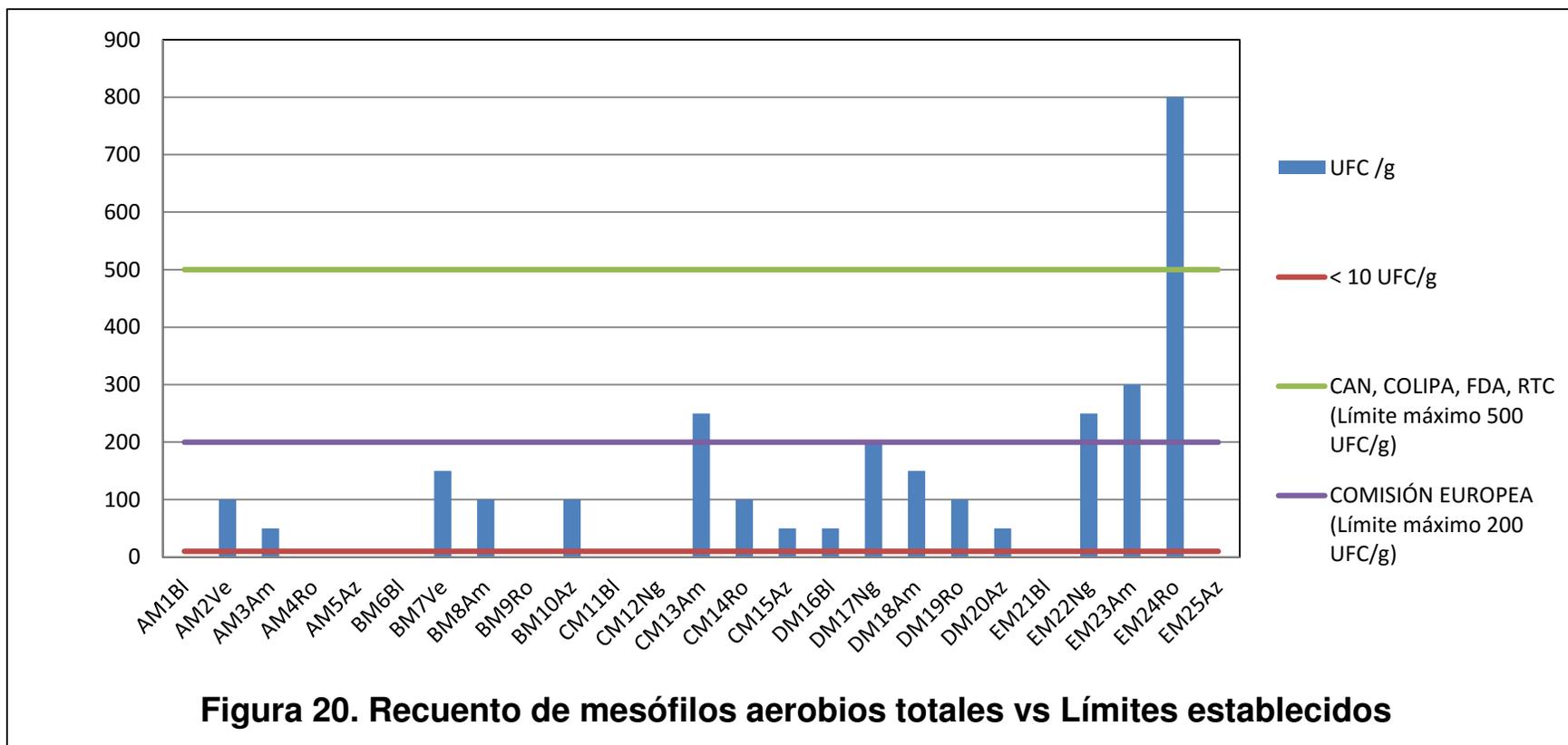
8.2.2. Recuento de mohos y levaduras

En la Figura 19, se muestra el recuento obtenido de mohos y levaduras por cada una de las muestras analizadas. Además, se observa que las muestras BM8Am y CM13Am son las únicas que evidencian crecimiento de colonias (100 UFC/g).



8.2.3. Recuento de mesófilos aerobios totales vs Límites establecidos

A continuación, la Figura 20 compara los resultados de los recuentos de mesófilos aerobios totales obtenidos con los límites establecidos por las normas internacionales vigente. A partir de ella se observa que las muestras CM13Am, EM22Ng, EM23Am y EM24Ro exceden el límite permisible por la Comisión Europea. De estas cuatro muestras mencionadas, EM24Ro excede a su vez el límite establecido por la CAN, la Cosmetics Europe (antes Colipa), la FDA y el RTC 71.03.45:07.



8.2.4. Pruebas de promoción de crecimiento

- **Resultados de la primera prueba de promoción de crecimiento:**

Ambas placas de agar MLA sembradas con inóculo de *S. aureus* evidenciaron crecimiento de colonias:

		Crecimiento
MLA	Placa 1	+
	Placa 2	+

Placa 1



Placa 2



Figura 21. Resultados de la 1ª prueba de promoción de crecimiento (Placas 1 y 2)

- **Resultados de la primera escala de McFarland:**

Luego de este procedimiento no se evidenció crecimiento de colonias de *S. aureus* en ninguna de las placas de agar MLA sembradas.

		N° Colonias
MLA	Placa 1	0
	Placa 2	0

- **Resultados de la segunda prueba de promoción de crecimiento - segunda escala de McFarland:**

Se evidencia mayor número de UFC en las placas sembradas con la técnica por extensión:

- ✓ **Siembra por extensión:**

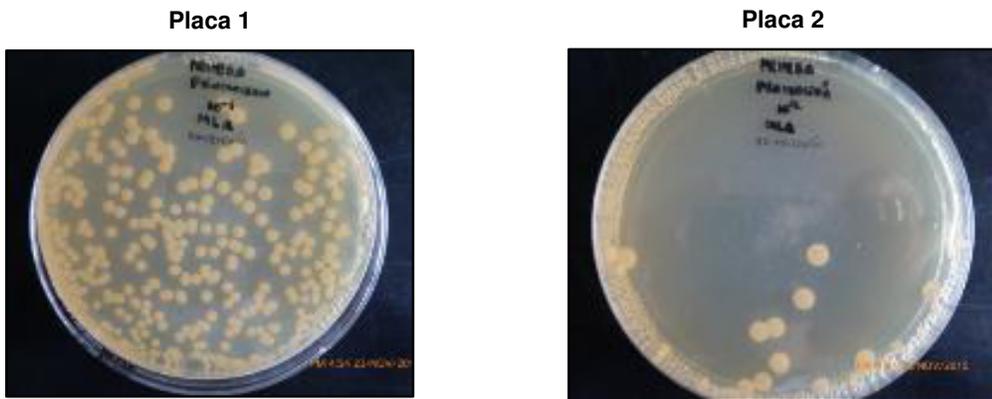


Figura 22. Resultados de la 2ª prueba de promoción de crecimiento - Técnica de sembrado por extensión (Placas 1 y 2)

- ✓ **Siembra por incorporación:**

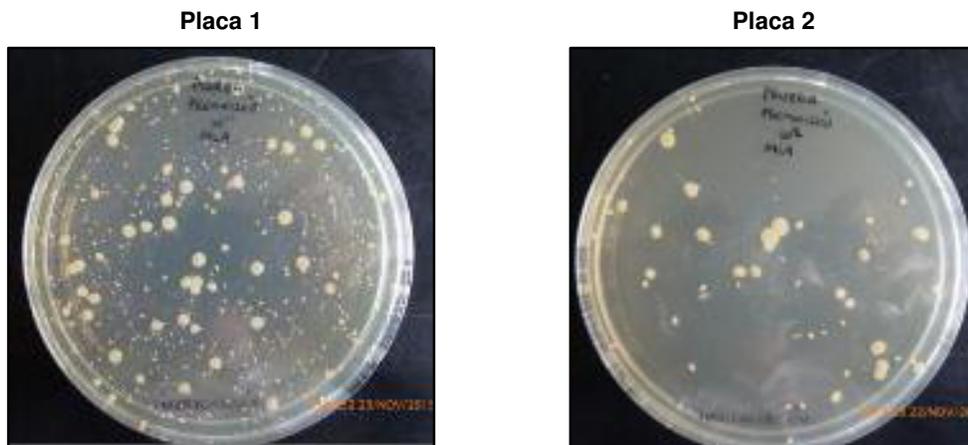


Figura 23. Resultados de la 2ª prueba de promoción de crecimiento - Técnica de sembrado por incorporación (Placas 1 y 2)

- **Resultados de tercera prueba de promoción de crecimiento - tercera escala de McFarland:**

✓ Después de 24 h:

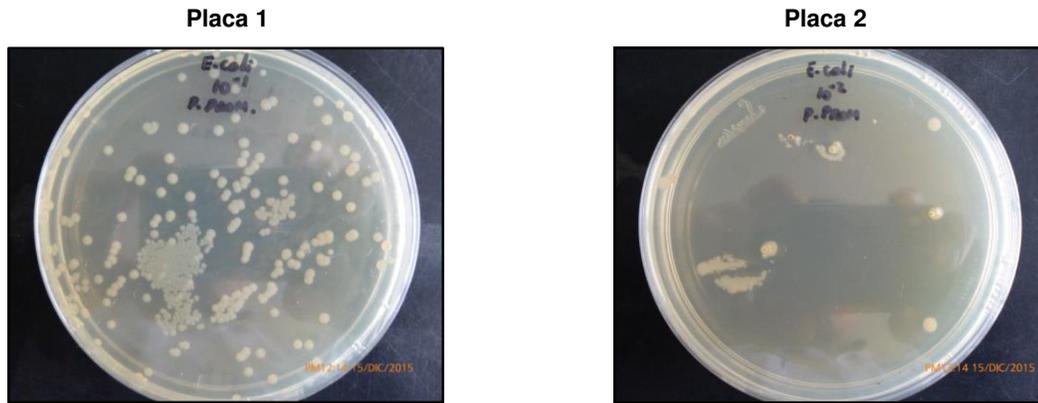


Figura 24. Resultados de la 3ª prueba de promoción de crecimiento (Placas 1 y 2)

✓ Después de 48 h:

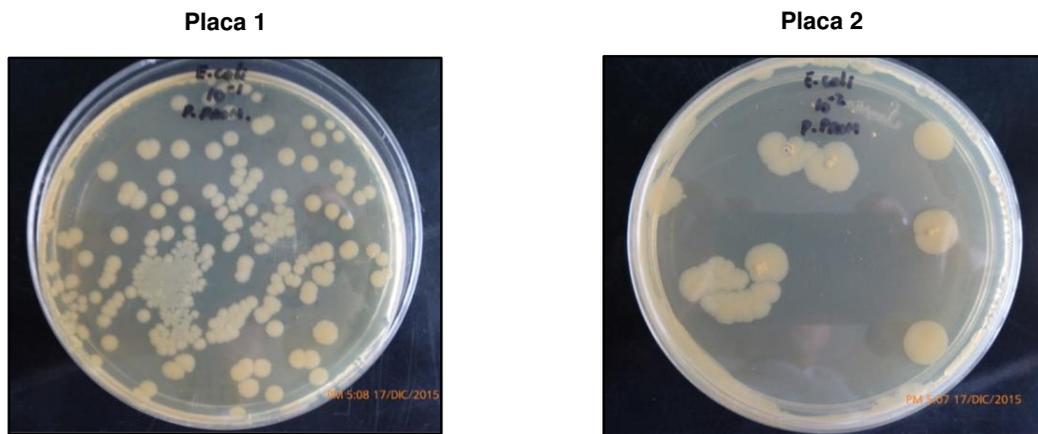


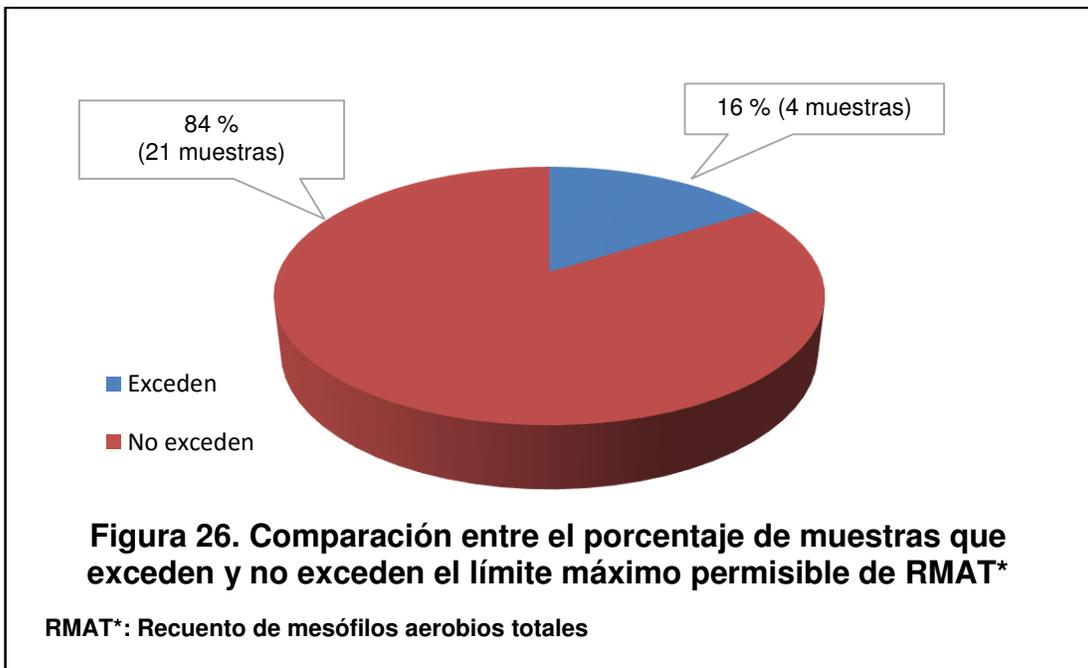
Figura 25. Resultados de la 3ª prueba de promoción de crecimiento (Placas 1 y 2)

Tabla 10. Comparación de resultados del recuento de mesófilos aerobios totales con límites máximos permisibles

MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CAN (Límite máximo 5x10² UFC/g)	Cosmetics Europe (Límite máximo 5x10² UFC/g)	Comisión Europea (Límite máximo 2x10² UFC/g)	FDA (Límite máximo 5x10² UFC/g)	RTC 71.03.45:07 (Límite máximo 5x10² UFC/g)
M1	AM1BI	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M2	AM2Ve	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M3	AM3Am	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M4	AM4Ro	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M5	AM5Az	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M6	BM6BI	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M7	BM7Ve	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M8	BM8Am	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M9	BM9Ro	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M10	BM10Az	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M11	CM11BI	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M12	CM12Ng	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M13	CM13Am	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
M14	CM14Ro	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M15	CM15Az	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M16	DM16BI	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M17	DM17Ng	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M18	DM18Am	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M19	DM19Ro	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M20	DM20Az	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M21	EM21BI	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
M22	EM22Ng	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
M23	EM23Am	Cumple	Cumple	No cumple	Cumple	Cumple
M24	EM24Ro	No cumple	No cumple	No cumple	No cumple	No cumple
M25	EM25Az	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple

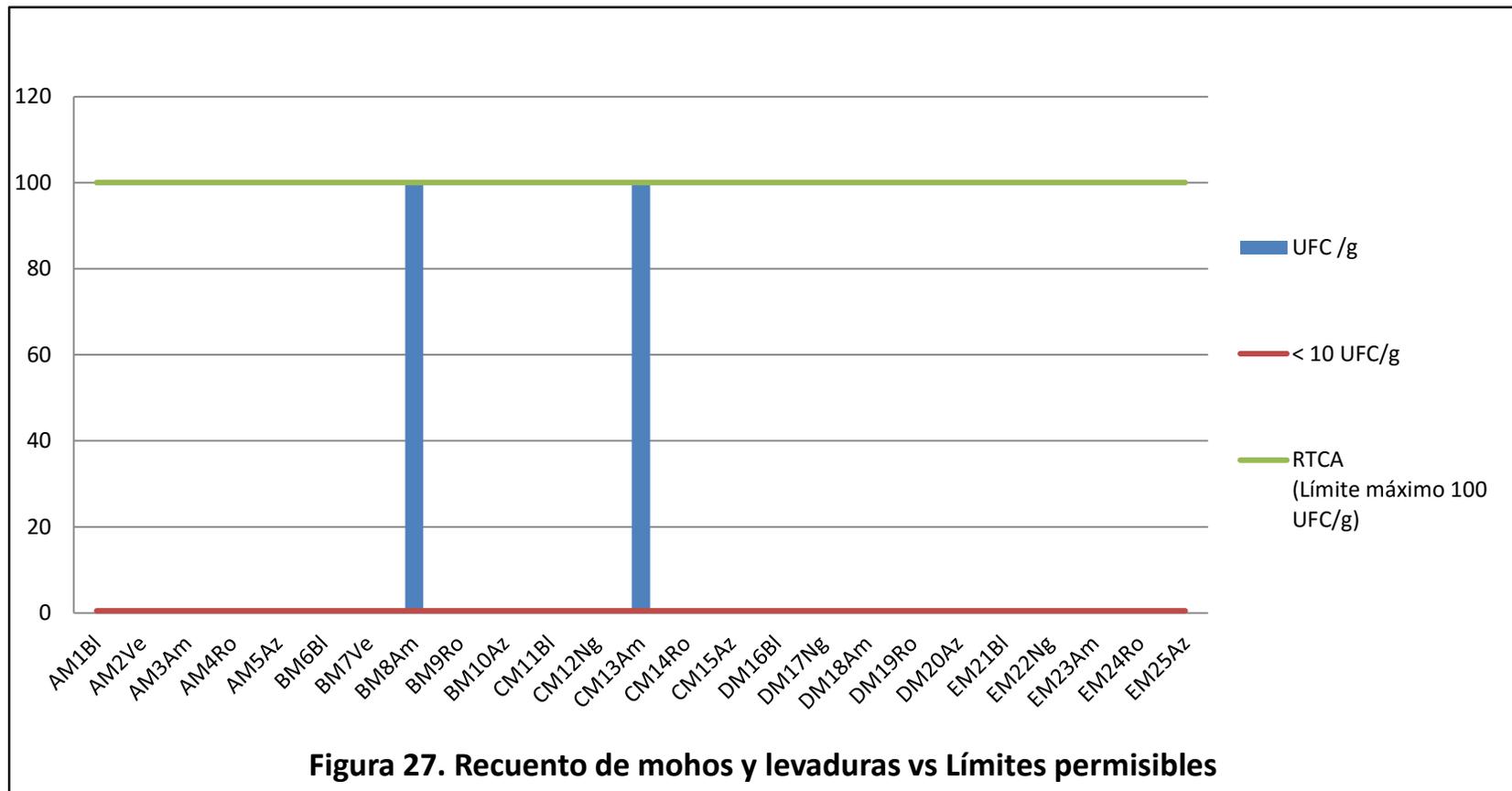
Tabla 11. Comparación entre el número de muestras que exceden y no exceden el límite máximo permisible de recuento de mesófilos aerobios totales

	Exceden	No exceden
Muestras contaminadas (con crecimiento de colonias)	4	12
Muestras no contaminadas (sin crecimiento de colonias)	0	9
Total de muestras	4	21



8.2.5. Recuento de mohos y levaduras vs Límites establecidos

Por otro lado, la Figura 27 detalla la comparación de los recuentos de mohos y levaduras obtenidos con los límites establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 71.03.45:07. De acuerdo con ella se observa que las muestras BM8Am y CM13Am presentan el mayor recuento (100 UFC/g); sin embargo, y al igual que las demás muestras, no exceden el límite máximo permisible.



8.2.6. Evaluación de la presencia de microorganismos patógenos

No se observó crecimiento de colonias características de los principales microorganismos patógenos como *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*. y *C. albicans*. Se encuentran ausentes en todas las muestras evaluadas.

8.3. Análisis de Plomo

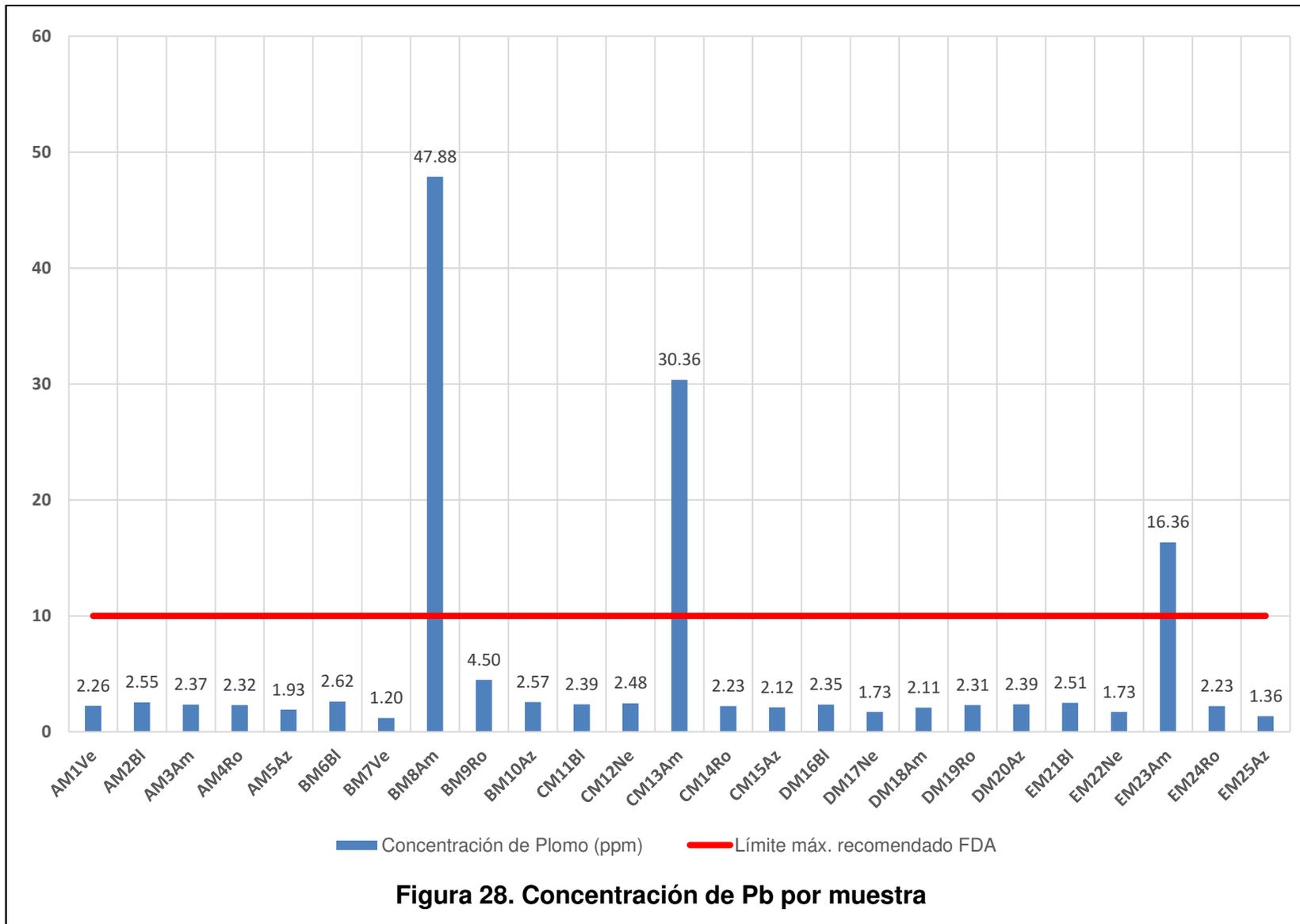
Tabla 12. Concentración de Pb en pinturas faciales

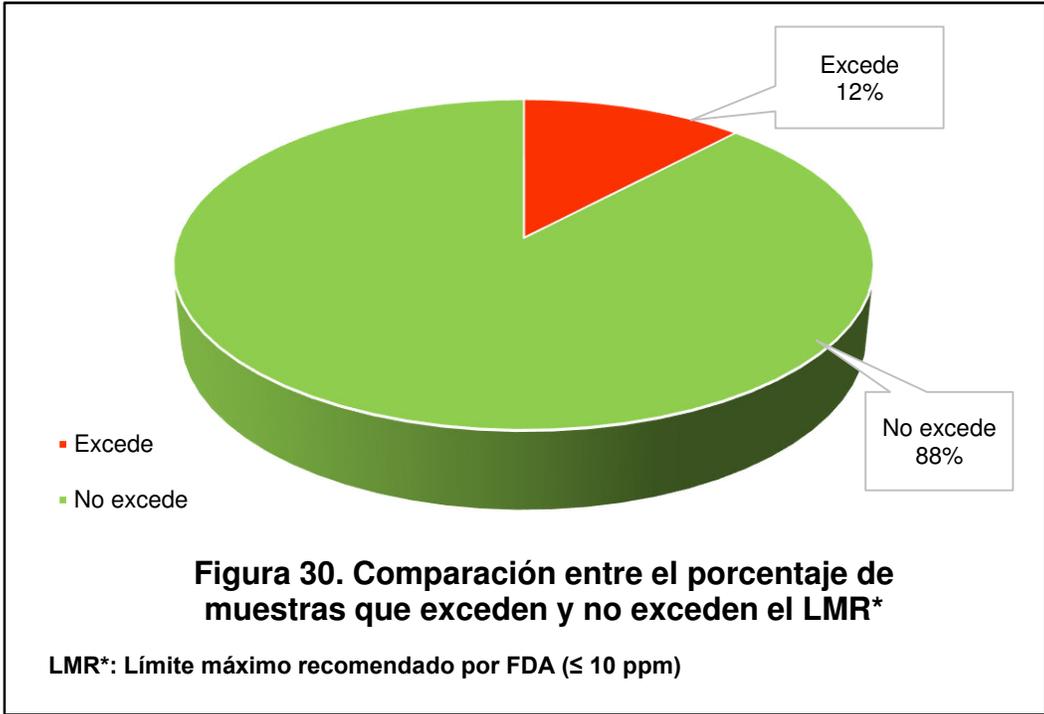
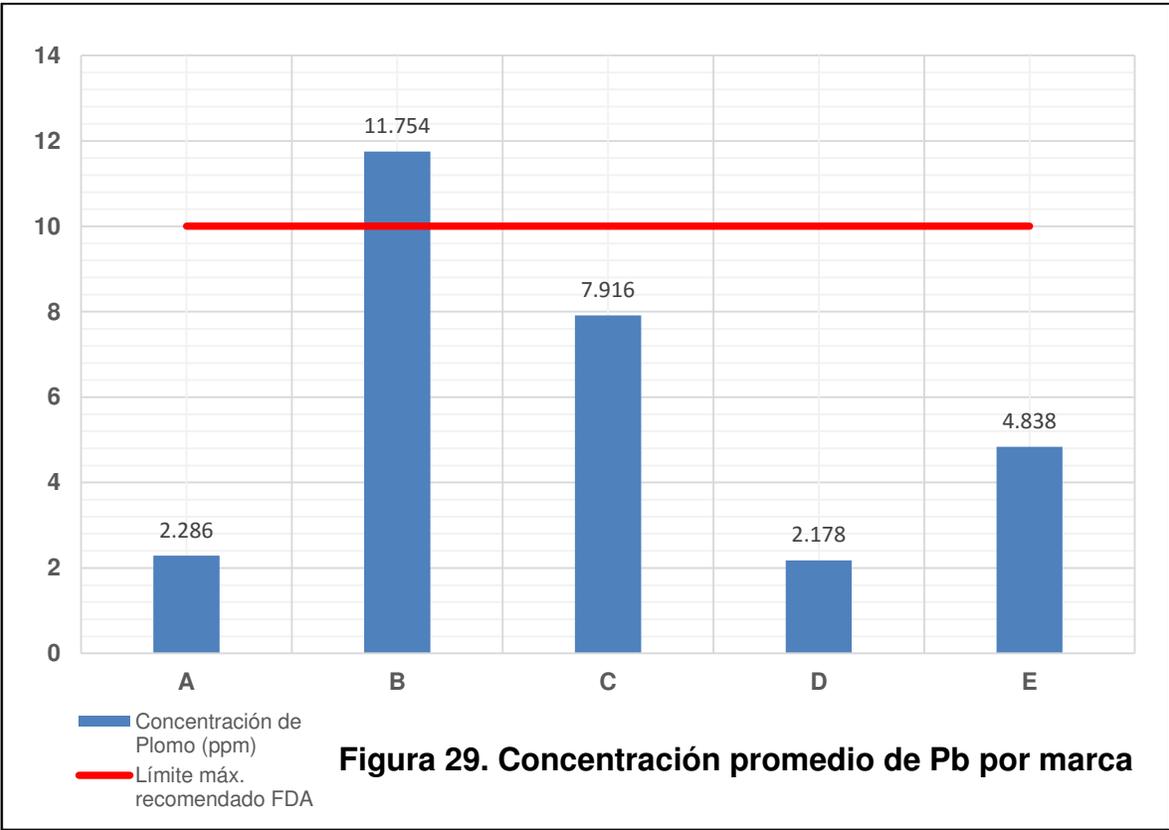
Marca	Muestra	Código de muestra	[Pb]	Promedio de [Pb] por Marca	Desviación estándar (S)	Promedio de [Pb] Total
A	M1	AM1Ve	2,26 ppm	2,286 ppm	0,227	
	M2	AM2Bl	2,55 ppm			
	M3	AM3Am	2,37 ppm			
	M4	AM4Ro	2,32 ppm			
	M5	AM5Az	1,93 ppm			
B	M6	BM6Bl	2,62 ppm	11,754 ppm	20,229	
	M7	BM7Ve	1,20 ppm			
	M8	BM8Am	47,88 ppm			
	M9	BM9Ro	4,50 ppm			
	M10	BM10Az	2,57 ppm			
C	M11	CM11Bl	2,39 ppm	7,916 ppm	12,547	5,794 ppm
	M12	CM12Ne	2,48 ppm			
	M13	CM13Am	30,36 ppm			
	M14	CM14Ro	2,23 ppm			
	M15	CM15Az	2,12 ppm			
D	M16	DM16Bl	2,35 ppm	2,178 ppm	2,450	
	M17	DM17Ne	1,73 ppm			
	M18	DM18Am	2,11 ppm			
	M19	DM19Ro	2,31 ppm			
	M20	DM20Az	2,39 ppm			
E	M21	EM21Bl	2,51 ppm	4,838 ppm	6,456	
	M22	EM22Ne	1,73 ppm			
	M23	EM23Am	16,36 ppm			
	M24	EM24Ro	2,23 ppm			
	M25	EM25Az	1,36 ppm			

Tabla 13. Contenido de Plomo frente al límite máximo recomendado según FDA

LMR*	N° de muestras	Porcentaje (%)
Excede	3	12 %
No excede	22	88 %
Total	25	100 %

LMR*: Límite máximo recomendado por FDA (≤ 10 ppm)





IX. DISCUSIÓN

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar el contenido microbiológico y la concentración de plomo en pinturas faciales infantiles; para determinar su calidad sanitaria.

Previo a la realización de las pruebas microbiológicas, en la etapa de la manipulación de las muestras, se detectaron irregularidades en cuanto a la información técnica consignada en los rotulados al no cumplir en ciertos casos con la normativa y legislación vigente, sin embargo no se encontraron irregularidades en cuanto a la apariencia y consistencia del producto que puedan dar indicios de contaminación por microorganismos.

Sin embargo, los recuentos de aerobios mesófilos totales, evidencian que 16 de las 25 muestras (las cuales representan un 64 % del total) poseen contaminación microbiana. La mayoría de éstas cumplen con los límites máximos permisibles dados por distintos organismos internacionales como la CAN³³ (a través de la Resolución 1482, la cual aplica a nivel nacional), la Cosmetics Europe³⁵ (a través de la guía de calidad microbiológica de Colipa de 1997), la Comisión Europea³⁶ y la FDA³⁴ y el Reglamento Técnico Centroamericano 71.03.45:07; sin embargo, 4 muestras (las cuales representan un 16 % del total) exceden los límites máximos establecidos por la Comisión Europea, y una de ellas, a su vez, excede el límite establecido por la CAN, la Cosmetics Europe, la FDA y el Reglamento Técnico Centroamericano 71.03.45:07. Por lo tanto 84 % de las muestras cumplen con las especificaciones brindadas por organismos internacionales en aspectos de calidad microbiológica.

Adicionalmente, los resultados de los recuentos de mohos y levaduras evidencian que 2 muestras poseen contaminación microbiana, sin embargo estas cumplen con los límites máximo permisibles brindados por el Reglamento Técnico Centroamericano³⁷. Por lo tanto el 100 % de las muestras cumplen con las especificaciones tomadas como referencia.

Luego de los recuentos de microorganismos, se realizaron las pruebas de identificación de patógenos como *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *C. albicans*; los resultados evidencian la ausencia de ellos en el 100 % de las muestras, lo cual cumple con las especificaciones de calidad microbiológica.

Los resultados obtenidos fueron validados mediante pruebas adicionales como las de promoción de crecimiento las cuales nos permitieron verificar la idoneidad de los medios de dilución y de los cultivos utilizados, las condiciones de incubación bajo las cuales se trabajaron y la técnica utilizada para la siembra. A través de los resultados de la primera prueba de promoción de crecimiento se comprobó que la composición del medio MLA es el adecuado y que promueve el crecimiento de gram positivos como *S. aureus* al contener los nutrientes necesarios. A través de los resultados de la segunda prueba de promoción de crecimiento se comprobó que la técnica de siembra adecuada es la técnica por extensión ya que permite un desarrollo y crecimiento más rápido que la técnica por incorporación. Esta segunda prueba también nos permitió comprobar que el medio MLA no contiene inhibidores que impidan el desarrollo y crecimiento de microorganismos y que el crecimiento de colonias corresponde con las cantidades esperadas por cada dilución. Por último, mediante la tercera prueba de promoción de crecimiento se comprobó que la composición del medio MLA es además el adecuado para promover el crecimiento de gram negativos como *E. coli*.

En 1980, Amaya y Vásquez⁷⁴ evaluaron la calidad microbiológica de diversos cosméticos infantiles producidos en área centroamericana. Determinaron que de 44 muestras analizadas 39 (86 % del total) estaban altamente contaminadas por microorganismos, concluyendo que estos productos no son aptos para los consumidores al exceder el límite de 500 UFC/g y evidenciar presencia de patógenos. En contraste con nuestra investigación, si bien el 64 % de las muestras evidencian contaminación microbiana y el 16% excede los límites permisibles, ninguna posee microorganismos patógenos que puedan poner en riesgo la salud del consumidor.

La contaminación microbiana de las muestras analizadas en la presente investigación puede deberse a distintos factores ya que muchos productos cosméticos proporcionan condiciones óptimas para el crecimiento microbiano, incluyendo agua, nutrientes, pH y otros factores de crecimiento. Además, las temperaturas ambientales y la humedad relativa en la que muchos productos cosméticos son fabricados, almacenados y utilizados por los consumidores, promoverán el crecimiento de microorganismos que podrían causar daño a los usuarios o causar degradación del producto⁷⁵.

El sistema conservante elegido debe controlar la posibilidad de contaminación microbiana durante la fabricación⁷⁶, sin embargo, su ineficacia puede representar la permanencia y desarrollo de microorganismos en el producto sea cual fuere su procedencia. Es así que en la investigación realizada por May-Hadford *et al.*⁷⁷ se evaluó el potencial de transmisión de *S. aureus* a través del uso de pinturas faciales (crayolas) en guarderías infantiles. Se determinó la ausencia de microorganismos en las pinturas no usadas. Sin embargo en el grupo de las pinturas usadas el 45 % (n=13) excedía el límite de 500 UFC/g y el 6 % (n=3) evidenció la presencia de *S. aureus*.

En relación al control toxicológico realizado, los resultados obtenidos evidencian presencia de plomo en las muestras de pinturas faciales infantiles obtenidas en el Mercado Central de Lima. De las 5 marcas comerciales evaluadas el 12% de muestras analizadas contienen plomo en un rango que oscila entre 16,36 ppm a 47,88 ppm. Asimismo, en las muestras de la marca B el contenido promedio de plomo es 11,754 ppm, el cual está por encima del límite recomendado (10 ppm), con una desviación estándar (S) de 20,2291. Además, es la marca comercial donde se obtuvo uno de los valores más altos (47,88 ppm).

Para el caso de las marcas C y E, a pesar que los valores promedios de concentración de plomo obtenidos se encuentran por debajo del límite permisible recomendado; se obtuvieron valores puntuales de 30,36 ppm y 16,36 ppm

respectivamente al analizar sendas muestras de pinturas amarillas. La presencia de plomo en los cosméticos está asociado al uso de colorantes que contienen este metal pesado bajo la forma de impurezas.

Según Gallegos *et al.*, en el 2007 un informe demostraba que los labiales de 33 marcas mundialmente conocidas contenían niveles de plomo. En ellos se encontró trazas toleradas, bajo la forma de acetato de plomo, por la legislación internacional la cual concluyó que no presentaban riesgo identificado para la salud humana. El problema es que los consumidores están expuestos repetidamente, día tras día, a estos niveles “bajos” del metal pesado y esa reiteración genera una bioacumulación, que es lo que al final puede acarrear problemas a la salud³.

Sin embargo, otros estudios como el realizado por Moore *et al.*, señalan que la absorción percutánea de plomo a partir de preparaciones cosméticas oscurecedoras del cabello que contienen acetato de plomo medidos en ocho sujetos masculinos humanos normales, y en donde la cantidad de plomo absorbido se calculó a partir de recuentos sanguíneos, recuentos de todo el cuerpo y radiactividad en la orina; no representa peligro potencial ya que la absorción oscilo entre 0 y 0,3 % de la dosis aplicada a la piel entera lo que, de acuerdo al estudio, es insignificante⁷⁸.

Por último, según la propuesta dada por la FDA en diciembre del 2016, el límite máximo permisible de plomo en cosméticos es 10 ppm por lo que algunas de las muestras evaluadas en el presente trabajo no cumplen con la indicación de este ente regulador. Además, y considerando que no hay estudios realizados en niños que demuestren que el riesgo potencial de absorción percutánea de plomo es mínimo, se debe tener en cuenta que cantidades pequeñas pueden acarrear problemas de salud en los infantes que usan este tipo de productos.

X. CONCLUSIONES

1. El 84 % de las pinturas faciales infantiles analizadas cumplen con las especificaciones para recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales brindadas por normativa y legislación vigente a nivel nacional e internacional.
2. El total de las muestras analizadas cumplen con las especificaciones para recuento de mohos y levaduras, de acuerdo con el Reglamento Técnico Centroamericano 71.03.45:07.
3. El total de las muestras analizadas no contienen microorganismos patógenos (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *C. albicans*) y por lo tanto cumplen con las especificaciones de calidad microbiológica brindadas por normativa y legislación vigente a nivel nacional e internacional.
4. El 88 % de las muestras analizadas cumple con el límite máximo recomendado por la FDA y OMS para plomo en cosméticos (≤ 10 ppm)

XI. RECOMENDACIONES

1. Se debería considerar los límites establecidos por distintas entidades internacionales ya que se estaría cumpliendo con altos estándares de calidad sanitaria, la cual se torna importante al evaluar productos aplicados en la piel de los niños y zonas delicadas como el contorno de los ojos.
2. Es necesario, al momento de adquirir este tipo de productos cosméticos, verificar la información contenida en el empaque como el número de NSO (Notificación Sanitaria Obligatoria), las instrucciones de uso y las advertencias.
3. Es importante verificar irregularidades en cuanto a la apariencia del producto (color, olor, textura) antes de la aplicación en la piel.
4. Es fundamental la realización de un exhaustivo control microbiológico de los productos cosméticos, por parte de nuestra Autoridad Sanitaria, en la etapa de comercialización ya que puede convertirse en un punto de origen de contaminación microbiana al no seguir adecuadas prácticas de almacenamiento.
5. Es imperativo establecer especificaciones referentes al contenido de plomo en productos cosméticos.
6. Se sugiere incrementar las tareas de fiscalización de productos cosméticos, especialmente de aquellos cuya aplicación se realiza en niños.
7. Se aconseja realizar labores de educación sanitaria en la población ejecutando charlas informativas que conlleven a una concientización sobre el uso de productos cosméticos de dudosa procedencia y el efecto de los daños que puede ocasionar el plomo en la población infantil.
8. Es primordial que, durante la etapa de evaluación de los documentos previo a la entrega de la Notificación Sanitaria Obligatoria, se exija el certificado del fabricante en donde se declare la cantidad de plomo de su producto final para un mayor control.
9. Se debería evaluar el contenido de otros metales pesados e incrementar el número de muestras de pinturas faciales durante el análisis.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hill J, Kolb D. Química para el nuevo milenio. 8ª ed. México: Pearson Prentice Hall; 1999.
2. Ligia G. Evaluación de la calidad microbiológica de cosméticos para bebés elaborados por la industria guatemalteca [Tesis]. Antigua Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2003.
3. Gallegos W, Vega M, Noriega P. Espectroscopía de Absorción Atómica con Llama y su aplicación para la Determinación de Plomo y control de Productos Cosméticos. 2012 [citado 4 de abril de 2015]; Recuperado a partir de: <http://localhost:8080/xmlui/handle/123456789/8824>
4. Las toxinas que contienen las pinturas faciales de Halloween dan miedo [Internet]. Consumer HealthDay. [citado 19 de agosto de 2015]. Recuperado a partir de: <http://consumer.healthday.com/kids-health-information-23/child-development-news-124/las-toxinas-que-contienen-las-pinturas-faciales-de-halloween-dan-miedo-632491.html>
5. DIGEMID [Internet]. “Caritas pintadas” de Halloween pueden afectar capacidad de aprendizaje y crecimiento de niños [citado 19 de agosto de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/Main.asp?Seccion=3&IdItem=1710>
6. DIGEMID [Internet]. Pinturas a base de agua para caras divertidas en niños [citado 1 de agosto de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/Main.asp?Seccion=3&IdItem=796>
7. Cosmetics Latinoamérica - Revista de Cosméticos & Tecnología en Español [Internet]. Evaluación Microbiológica de Productos Cosméticos con Baja Actividad de Agua [citado 19 de agosto de 2015]. Recuperado a partir de: http://www.cosmeticsonline.la/la_artigostecnicos.php?artigo=42
8. Ghalleb S, De Vaugelade S, Sella O, Lavarde M, Mielcarek C, Pense-Lheritier A-M, et al. Predictive microbiology for cosmetics based on physicals, chemicals and concentration parameters. Int J Cosmet Sci. 2015; 37(1):70-5
9. Kerdudo A, Fontaine-Vive F, Dingas A, Faure C, Fernandez X. Optimization of cosmetic preservation: water activity reduction. Int J Cosmet Sci. 2015; 37(1):31-40.
10. Leranoz S. Conservantes cosméticos. Offarm: Farmacia y Sociedad. 2002; 21(7):74-78.
11. Comunidad Andina de Naciones. Decisión 516. Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos. Lima, marzo de 2002.

12. Federal Food, Drug, and Cosmetic Act. 21 USC Ch. 9. Section 201 (i). [Internet]. USA. [citado 9 Oct. 2016]. Disponible desde: <http://uscode.house.gov/view.xhtml?path=/prelim@title21/chapter9&edition=prelim>
13. European Commission- Cosmetics- Cosing- Functions [Internet]. Comisión Europea [citado 9 Oct. 2016]. Disponible en: http://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/index.cfm?fuseaction=ref_data.functions
14. Real Decreto 1599/1997, de 17 de octubre, que recoge la regulación de productos cosméticos (BOE 31-10-97). [citado el 10 Oct 2016]. Disponible en: https://www.aemps.gob.es/va/legislacion/espana/cosmeticosHigiene/docs/cosmeticos/rcl_1997_2572.pdf
15. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (Anvisa). Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. Brasil: Anvisa. 2005.
16. Altunaga L, Yip J, Figueredo N, Leyva V, Torres S. Calidad Sanitaria de Cosméticos de producción nacional y de importación durante 1999. Rev Cubana Aliment Nutr. 2001; 15(1):74-77.
17. Shewhart W.A. Economic Control of Quality of Manufactured Product. Wisconsin: ASQ Quality Press; 1931.
18. Gudiño R. Control microbiológico de cremas faciales, a base de productos naturales, comercializadas en centros naturistas de la ciudad de Quito [Tesis]. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2013.
19. Galdorfini B, José de Almeida M, Corrêa MA, Borges V. Cosmetics' Quality Control [Internet]. In: Dr. Isin Akyar (Ed), Latest Research into Quality Control, InTech, 2012. [citado 15 Oct. 2016]. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/latest-research-into-quality-control/cosmetics-quality-control>
20. Santos de la Sen A, Patiño B, Vásquez C, Marquina D. Diseño docente para la realización de prácticas de control de la calidad microbiológica de productos cosméticos y de dermofarmacia. Reduca (Biología). 2009. 2 (4): 16-34.
21. Smart R, Spooner DF. Microbiological spoilage in pharmaceuticals and cosmetics. J Soc Cosmet Chem. 1972; 23:721–737.
22. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM): Microbiological Methods for Cosmetics [Internet]. USA: Food and Drug Administration (FDA); 1998 [Actualizado 06 Ene 2017; citado 10 Feb 2017]. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm073598.htm>

23. Gómez C. *Staphylococcus aureus* en población pediátrica: epidemiología molecular y factores de virulencia [Tesis]. Universidad Complutense de Madrid; 2013.
24. Bannerman TL. *Staphylococcus, Micrococcus, and other Catalase Positive Cocci That Grow Aerobically*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington DC: ASM Press; 2003. p. 384-404.
25. Laboratorios Britania [Internet]. [citado 5 Ene 2017]. Disponible en: <http://www.britanialab.com/productos.php>
26. Moore NM, Flaws ML. Epidemiology and pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Clinical Laboratory Science* [Internet]. 2011 [citado 5 Ene 2017]; 24(1):43. Disponible en: <http://search.proquest.com/openview/eb8dc27b32db19e116bfff7523877478/1?pq-origsite=gscholar>
27. Marzulli FN, Evans JR, Yoder PD. Induced *Pseudomonas keratitis* as related to cosmetics. *J Soc Cosmet Chem*. 1972; 23:89–97.
28. Brooks G, et al. Jawetz, Melnick y Adelberg: *Microbiología médica*. 25ª ed. México: McGraw Hill; 2011. p. 213, 220, 227, 647-649.
29. Rodríguez-Angeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de México*. 2002; 44(5):464–475.
30. Congreso de la República del Perú. Ley N°29459. Ley de los Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios. Lima, Diario El Peruano, 2009.
31. Comunidad Andina de Naciones. Resolución 797. Reglamento de la Decisión 516 sobre Control y Vigilancia Sanitaria de Productos Cosméticos. Lima, Gaceta Oficial del Acuerdo de Cartagena, 2004.
32. Comunidad Andina de Naciones. Resolución 1418. Adiciones a la Resolución 797 – Límites de contenido microbiológico de productos cosméticos. Lima, Gaceta Oficial del Acuerdo de Cartagena, 2011.
33. Comunidad Andina de Naciones. Resolución 1482. Modificación de la Resolución 1418: Límites de contenido microbiológico de productos cosméticos. Lima, Gaceta Oficial del Acuerdo de Cartagena, 2012.
34. Food and Drug Administration. Compliance Program Guidance Manual. Chapter 29. Colors and Cosmetics Technology. [citado 10 Nov 2016]. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Cosmetics/GuidanceRegulation/GuidanceDocuments/UCM208412.pdf>

35. Colipa. Guidelines on Microbial Quality Management (MQM). Edition of 1997. Bélgica: Colipa. [citado 10 Nov 2016]. Disponible en: https://www.cosmeticseurope.eu/files/5014/6407/9187/Guidelines_on_Microbial_Quality_Management_-_1997.pdf
36. SCCS, European Comission. Notes of Guidance for Testing of Cosmetics Ingredients and Their Safety Evaluation, 9th Revision. Adoptado en la 11ª Reunión Plenaria de 29 Setiembre 2015. SCCS/1564/15, 2015. [citado 10 Nov 2016]. Disponible en: http://ec.europa.eu/health/sites/health/files/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_190.pdf
37. Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 71.03.45 [Internet]. [citado 6 May 2017]. Disponible en: https://www.google.com.pe/?gfe_rd=cr&ei=kkoNw3_FcHI8Af6u5uACw#q=rtca+71.03.45
38. Centre for Science and Environment. Heavy Metals in Cosmetics. India: CSE; 2014.
39. Intoxicación por plomo y salud [Internet]. Organización Mundial de la Salud [citado 30 Set 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs379/es/>
40. Saxena G, Kannan GM, Saksenad N, Tirpude RJ, Flora SJS. Lead induced oxidative stress and DNA damage using comet assay in rat blood. J Cell Tissue Res. 2006; 6 (2): 763-768.
41. Al-Saleh I, Al-Enazi S, Shinwari N. Assessment of lead in cosmetic products. Regul Toxicol Pharmacol. Jul 2009; 54 (2): 105-113.
42. Plomo (Lead). Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Division of Toxicology and Human Health Sciences [Internet]. [Citado el 18 de Noviembre del 2016]. Disponible en: https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts13.html#
43. Hermoza JC, Lomparte CA. Determinación toxicológica de plomo en leche de madres lactantes del centro de salud San Juan Bosco de la Provincia Constitucional del Callao [Tesis]. Lima: UNMSM. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2006.
44. Gisbert JA. Medicina Legal y Toxicología. Villanueva E, editor. 6ª ed. Barcelona: Masson; 2005.
45. Ekere NR, Ihedioha JN, Oparanozie TI, Ogbuefi-Chima FI, Ayogu J. Assesment of some heavy metals in facial cosmetic products. J Chem Pharm Res. 2014; 6(8):561-64.
46. Congreso de la República. Dictamen del Proyecto de Ley N° 4265/2010-CR, que establece la eliminación y/o reducción de plomo y otros metales pesados

- en productos destinados al uso o consumo humano. Lima: Comisión de Defensa del Consumidor y Organismos Reguladores de los Servicios Públicos; 2010.
47. Corey G, Galvão L. Plomo. Serie Vigilancia No. 8. Metepec, México: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Organización Panamericana de la Salud; 1989.
 48. Valdivia M. Intoxicación por plomo. Rev. Soc. Per. Med. Inter. 2005; 18 (1): 22-27.
 49. Shannon Michael. «Lead» en Haddad, Shanon y Winchester editores: Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose. WB Saunders, 3ª ed. 1998.
 50. Sanin L, González T, Romieu I, Hernández M. Acumulación de plomo en hueso y sus efectos en la salud. Salud Publica Mex. 1998; 40 (4): 359 – 368.
 51. Krantz A, Dorevitch S. Metal exposure and common chronic diseases: a guide for the clinician. Disease-a-Month. May 2004; 50 (5):215-262. Disponible en: DOI: 10.1016/j.disamonth.2004.04.001.
 52. Ellenhorn MJ. Metals and related compounds. En Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. William & Wilkins eds. 2ª ed. Los Angeles; 1997.
 53. Rubio C, Gutierrez AJ, Martín-Izquierdo RE, Revert C, Lozano G, Hardisson A. El plomo como contaminante alimentario. Rev. Toxicol. 2004; 21: 72-80.
 54. Alday E, Bartual J, Berenguer MJ, Delgado P, Huici A, Márquez F et al. Toxicología laboral básica. Madrid: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo; 1988.
 55. Gottlieb S. Sustained fall in UK blood lead levels reported. Br Med J. 1998; 317: 99.
 56. Antonowicz J, Andrzejak R, Kochel B. PARA, ACE, MAO, FEP levels and interactions in humans exposed chronically to heavy metals. En: Metal Ions Biology and Medicine. Collery Ph, Corbella J, Domingo JL, Etienne JC, Llobet JM eds. Vol 4. 1996. p. 648-50.
 57. Kurasaki M, Hartoto DI, Saito T, Suzuki-Kurasaki M, Iwakuma T. Metals in water in the Central Kalimantan, Indonesia. Bull Environ Contam Toxicol. 2000 Nov; 65(5): 591-7.
 58. Sierra A, Hardisson A. La contaminación química de los alimentos. Aditivos alimentarios. En: Piédrola G, Domínguez M, Cortina P et al., eds. Medicina Preventiva y Salud pública. 9ª ed. Barcelona: Salvat; 1991. p. 293-303.
 59. Torres-Sánchez L, López-Carrillo L, Ríos C. Eliminación del plomo por curado casero. Salud Pública Mex. 1999; 41: 106-8.

60. Vázquez E. Intoxicación plúmbica crónica y su relación con problemas de anemia en trabajadores de Siderperu. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015 [Recuperado el 23 Set 2016]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/4562/1/V%C3%A1squez_ce.pdf
61. Mencías E, Mayero L. Manual de toxicología básica. [en línea]. España: Díaz de Santos; 2000. [Recuperado el 20 Oct 2016]. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/Doc?id=10179609&ppg=659>
62. Repetto M, Repetto G. Toxicología fundamental. 4ª ed. España: Díaz de Santos; 2008.
63. Lorian V, editor. Antibiotics in laboratory medicine. 5th ed. Baltimore (MD): Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
64. McFarland J. The nephelometer: an instrument for estimating the numbers of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. JAMA. 1907; 49(14):1176-78.
65. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 10th ed. St. Louis (MI): Mosby, Inc. 1998.
66. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved standard: M7-A6. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 6th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 2003.
67. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved standard: M2-A8. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 8th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 2003.
68. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved standard: M11-A5. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, 5th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 2001.
69. Skoog D, Holler F, Nieman T. Principios de Analisis Instrumental. 5ª ed. España: Mc Graw-Hill / Interamericana de España, S.A.U. 2001.
70. AA.VV. Manuale del Cosmetologo. Tecniche Nuove, Italia, ricerca applicata, Progettazione, Engineering, Produzione, Marketing, Packaging, Discipline collegate. 2007.
71. Eilers H, Tissue BM. Laser Spectroscopy of Nanocrystalline Eu_2O_3 and $\text{Eu}^{3+}:\text{Y}_2\text{O}_3$. Chem. Phys. Lett. 1996 Mar; 251 (1-2): 74-8.
72. Gil F, Pla A, Hernández A, Rodrigo L, López O. Determinación de Metales por Absorción Atómica – Horno de Grafito [en línea]. Granada: Universidad de Granada; 2014 [Citado el 25 Ago 2016]. Disponible en: <http://www.ugr.es/~fgil/proyecto/grafito/fundamento3.html>

73. Izário HJ, Vernilli F, Pinto DV, Baccan N, Sartori AF. Tratamentos para obtenção de TaC em superfície de grafite. Parte I: Imersão em solução aquosa de TaF₇²⁻. Associação Brasileira de Cerâmica. 2001 Jul-Sep; 47(303): 144-8.
74. Vásquez Zaldaña A, Amaya G de los Á. Evaluación microbiológica de cosméticos infantiles producidos en el área Centroamericana. 1980 [citado 5 de mayo de 2017]; Disponible en: <http://ri.ufg.edu.sv/jspui/handle/11592/8942>
75. ISO 29621:2010, Cosmetics- Microbiology- Guidelines for the risk assessment and identification of microbiologically low-risk products. [citado 10 feb 2017]. Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:29621:ed-1:v2:en>
76. Tan ASB, Tuysuz M, Otuk G. Investigation of preservative efficacy and microbiological content of some cosmetics found on the market. Pak J Pharm Sci. 2013; 26(1):153–157.
77. May-Hadford J, Crago B, Ferrato C, Cook S, Macdonald J, Bradbury R, et al. P270 Potential for transmission of *Staphylococcus aureus* by face painting in daycare settings. International Journal of Antimicrobial Agents. 2009 Jul; 34; S111.
78. Moore M, Meredith P, Watson W, Sumner D, Taylor M, Goldberg A. The percutaneous absorption of lead-203 in humans from cosmetic preparations containing lead acetate, as assessed by whole-body counting and other techniques, England. Food Cosmet Toxicol. 1980 Aug; 18(4): 399-405.

XIII. ANEXOS

ANEXO N° 1. LISTA DE FUNCIONES DE LOS COMPONENTES COSMÉTICOS (UNIÓN EUROPEA)

Abrasivo	Elimina materiales de varias superficies del cuerpo o ayuda mecánicamente a limpiar o mejorar el brillo de los dientes
Absorbente	Absorbe las sustancias disueltas o finamente dispersas solubles en agua y/o en aceite
Antiapelmazante	Permite el libre flujo de partículas sólidas y evita así la aglomeración de cosméticos en polvo en grumos o masas duras
Anticorrosivo	Evita la corrosión del envase
Anticaspa	Ayuda a controlar la caspa
Antiespumante	Suprime la espuma durante la fabricación o reduce la tendencia de los productos acabados a generar espuma
Antimicrobiano	Ayuda a controlar el crecimiento de microorganismos en la piel
Antioxidante	Inhibe las reacciones promovidas por el oxígeno, evitando así la oxidación y la rancidez
Antitranspirante	Reduce la transpiración
Antiplaca	Ayuda a proteger contra la placa
Antiseborreico	Ayuda a controlar la producción de sebo
Agente antiestático	Reduce la electricidad estática neutralizando la carga eléctrica en una superficie
Astringente	Contrae la piel
Aglutinante	Proporciona cohesión en los cosméticos
Agente blanqueador	Ilumina la sombra del cabello o la piel
Agente tampón	Estabiliza el pH de los cosméticos
Agente espesante	Incrementa el volumen de los cosméticos
Quelante	Reacciona y forma complejos con iones metálicos que pueden afectar la estabilidad y/o apariencia de los cosméticos.
Agente limpiador	Ayuda a mantener la superficie del cuerpo limpia
Colorante cosmético	Brinda color a los cosméticos y/o imparte color a la piel y/o sus apéndices.
Desnaturalizante	Vuelve los cosméticos inapropiados para el consumo oral. Principalmente añadido a los cosméticos que contienen alcohol etílico.
Desodorante	Reduce o enmascara los olores corporales desagradables
Agente depilatorio	Elimina el vello corporal no deseado
Desenredante	Reduce o elimina el entrelazado del cabello debido a la alteración o daño de la superficie del cabello y, por lo tanto, ayuda a peinar
Emoliente	Suaviza la piel
Emulsificante	Promueve la formación de mezclas íntimas de líquidos no miscibles alterando la tensión interfacial
Estabilizador de emulsión	Ayuda al proceso de emulsificación y mejora la estabilidad y duración de la emulsion
Formación de película	Produce, previa aplicación, una película continua sobre la piel, el cabello o las uñas
Agente aromatizante	Brinda sabor al producto cosmetic
Reforzador de espuma	Mejora la calidad de la espuma producida por un sistema que aumenta una o más de las siguientes propiedades: volumen, textura y/o estabilidad
Espumante	Atrapa numerosas pequeñas burbujas de aire u otro gas dentro de un pequeño volumen de líquido modificando la tensión superficial del líquido
Formador de gel	Proporciona la consistencia de un gel (una preparación semisólida con cierta elasticidad) a una preparación líquida

Acondicionador de cabello	Deja el cabello flexible, suave, brillante y fácil de peinar y/o imparte volumen, ligereza, brillo, etc.
Tinte de cabello	Brinda color al cabello
Fijador de cabello	Permite el control físico del estilo de pelo
Agentes para ondular y enderezar el cabello	Modifica la estructura química del pelo, permitiendo que se ajuste a la apariencia requerida
Humectante	Sostiene y retiene la humedad
Hidrótropo	Mejora la solubilidad de aquella sustancia ligeramente soluble en agua
Queratólítico	Ayuda a eliminar las células muertas del estrato córneo
Enmascarante	Reduce o inhibe el olor o sabor desagradable del product
Hidratante	Aumenta el contenido de agua de la piel y ayuda a mantenerla suave
Acondicionador de uñas	Mejora la apariencia de la uña
Opacificante	Reduce la transparencia o translucidez de los cosméticos
Cuidado bucal	Proporciona efectos cosméticos a la cavidad oral, como por ejemplo la limpieza, desodorización y protección
Oxidante	Cambia la naturaleza química de otra sustancia añadiendo oxígeno o eliminando hidrógeno
Agente nacarante	Imparte un aspecto nacarado a los cosméticos
Perfumante	Utilizado para perfumería y materias primas aromáticas
Plastificante	Suaviza y hace flexible otra sustancia que de otro modo no podría ser fácilmente deformada, diseminada o trabajada
Preservante	Inhibe principalmente el desarrollo de microorganismos en los cosméticos.
Agente propulsor	Genera presión en un paquete de aerosol, expulsando el contenido cuando se abre la válvula. Algunos propelentes licuados pueden actuar como disolventes
Agente reductor	Cambia la naturaleza química de otra sustancia añadiendo hidrógeno o eliminando oxígeno
Agente de revestimiento	Repone los lípidos del cabello o de las capas superiores de la piel
Agente refrescante	Proporciona agradable frescura a la piel
Acondicionador de piel	Mantiene la piel en buen estado
Protector de piel	Ayuda a evitar efectos nocivos en la piel por factores externos
Agente suavizante	Busca lograr una superficie uniforme de la piel disminuyendo la rugosidad o las irregularidades
Solvente	Disuelve otras sustancias
Agente calmante	Ayuda a aliviar la sensación incómoda de la piel o del cuero cabelludo
Estabilizante	Mejora los ingredientes o la estabilidad de la formulación y su vida útil
Surfactante	Reduce la tensión superficial de los cosméticos, así como ayuda a la distribución uniforme del producto cuando se utiliza
Agentes bronceadores	Oscurece la piel con o sin exposición a los rayos UV
Agente tónico	Produce una sensación de bienestar en la piel y el cabello.
Absorbente UV	Protege el producto cosmético de los efectos de los rayos UV
Filtros UV	Filtra ciertos rayos UV para proteger la piel o el cabello de los efectos nocivos de estos rayos
Agente de control de la viscosidad	Aumenta o disminuye la viscosidad de los cosméticos

ANEXO N°2: CLASIFICACIÓN DE PRODUCTOS COSMÉTICOS Y PRODUCTOS DE HIGIENE PERSONAL SEGÚN LA CAN

CLASIFICACIÓN DE PRODUCTOS COSMÉTICOS Y PRODUCTOS DE HIGIENE PERSONAL

A.- PRODUCTOS COSMÉTICOS PARA BEBES-NIÑOS

- 1.- *Champúes*
- 2.- *Reacondicionadores*
- 3.- *Lociones*
- 4.- *Aceites*
- 5.- *Cremas*
- 6.- *Talcos*
- 7.- *Otros Productos Para Bebes-Niños*

B.- PRODUCTOS COSMÉTICOS PARA EL AREA DE LOS OJOS

- 1.- *Lápiz De Cejas, Lápiz De ojos*
- 2.- *Delineador De Ojos*
- 3.- *Sombras De Ojos*
- 4.- *Removedor De Maquillajes Para Ojos*
- 5.- *Mascaras Para Pestañas*
- 6.- *Otros Productos Para El Área De Los Ojos*

C.- PRODUCTOS COSMÉTICOS PARA LA PIEL

- 1.- *Rubores*
- 2.- *Polvos Faciales*
- 3.- *Base De Maquillaje (Líquido, Cremoso)*
- 4.- *Correctores Faciales*
- 5.- *Maquillajes Para Piernas Y Cuerpo*
- 6.- *Cremas Faciales*
- 7.- *Lociones Faciales*
- 8.- *Cremas Para Manos Y Cuerpo*
- 9.- *Lociones Para Manos Y Cuerpo*
- 10.- *Talcos Para Los Pies*
- 11.- *Mascaras Faciales*
- 12.- *Otros Productos Cosméticos Para La Piel.*

D.- PRODUCTOS COSMÉTICOS PARA LOS LABIOS

- 1.- *Lápices Labiales*
- 2.- *Brillo Labial*
- 3.- *Protectores Labiales*
- 4.- *Delineadores Labiales*
- 5.- *Otros Productos Para Los Labios*

E.- PRODUCTOS COSMÉTICOS PARA EL ASEO E HIGIENE CORPORAL

- 1.- *Jabones*
- 2.- *Talcos*
- 3.- *Aceites De Baño*
- 4.- *Tabletas De Baño*
- 5.- *Sales De Baño*
- 6.- *Burbujas Y Geles De Baño*
- 7.- *Shampoo De Baño*
- 8.- *Paños Y Toallas Húmedas*
- 9.- *Otros Productos Para El Aseo E Higiene Corporal*

F.- PRODUCTOS DESODORANTES Y ANTITRANSPIRANTES

- 1.- *Desodorantes*
- 2.- *Desodorantes Y Antitranspirantes*
- 3.- *Desodorantes Para Higiene Femenina*
- 4.- *Otros Productos Desodorantes Y Antitranspirantes*

G.- PRODUCTOS COSMÉTICOS CAPILARES

- 1.- *Tintes Para El Cabello*
- 2.- *Shampoo Coloreados*
- 3.- *Aerosoles Para Dar Color*
- 4.- *Iluminador Del cabello*
- 5.- *Shampoo*
- 6.- *Reacondicionadores*
- 7.- *Decolorantes Del Cabello*
- 8.- *Lacas*
- 9.- *Geles*
- 10.- *Mousse*
- 11.- *Permanentes*
- 12.- *Laceadores*
- 13 *Neutralizadores*
- 14 *Lociones Tónicas*
- 15 *Otros Productos Para El Cabello*

H.- PRODUCTOS COSMÉTICOS PARA LAS UÑAS

- 1.- *Base De Esmalte*
- 2.- *Suavizante De Cutícula*
- 3.- *Crema Para Uñas*
- 4.- *Esmalte*
- 5.- *Removedor De Esmalte*
- 6.- *Óleo Para Uñas*

- 7.- *Brillos Para Las Uñas*
- 8.- *Otros Productos Para Las Uñas*

PRODUCTOS COSMÉTICOS DE PERFUMERÍA CON LA MISMA FRAGANCIA

PRODUCTOS PARA LA HIGIENE BUCAL Y DENTAL

- 1.- *Dentífricos (Todo Tipo)*
- 2.- *Enjuagues Bucales (No Medicados)*
- 3.- *Otros Productos Para La Higiene Bucal Y Dental*

PRODUCTOS PARA DESPUÉS DEL AFEITADO

- 1.- *Bálsamo Para Después De Afeitarse*
- 2.- *Lociones Para Después De Afeitado*
- 3.- *Cremas De Afeitar*
- 4.- *Jabones Y Espumas De Afeitar*
- 5.- *Geles Para Después De Afeitar*
- 6.- *Otros Productos Para El Afeitado*

PRODUCTOS PARA EL BRONCEADO, PROTECCIÓN SOLAR

- 1.- *Aceites Bronceadores*
- 2.- *Cremas Bronceadoras*
- 3.- *Lociones Bronceadoras*
- 4.- *Cremas Protectoras Solares*
- 5.- *Lociones Protectoras Solares*
- 6.- *Otros Productos Para El Bronceado Y Protección Solar*

PRODUCTOS DEPILATORIOS

- 1.- *Ceras Depilatorias*
- 2.- *Cremas Depilatorias*
- 3.- *Aceites Depilatorio*
- 4.- *Gel Depilatorio*

PRODUCTOS PARA EL BLANQUEADO DE LA PIEL

- 1.- *Cremas Blanqueadoras*
- 2.- *Lociones Blanqueadoras*
- 3.- *Otros Productos Para El Blanqueado De La Piel.*

ANEXO N°3: INFORME DE ENSAYO - USAQ



INFORME DE ENSAYO N° 346-2016

Cliente : PAUL REIMANN CRUZ AUSEJO
Referencia USAQ : 249-01/25
Muestras : PINTURAS FACIALES
Cotización : 285-336-337-2016/USAQ-FQIQ
Fecha de Recepción : 23/09/2016
Fecha de Emisión : 12/10/2016

RESULTADO DE ANÁLISIS DETERMINACIÓN DE PLOMO

CODIGO DE MUESTRA USAQ	CODIGO Y REFERENCIA DEL CLIENTE	DETERMINACION	RESULTADOS
249-01	ELEGANT COLORS ROJO	PLOMO	2,31 ppm
249-02	ELEGANT COLORS AMARILLO	PLOMO	2,11 ppm
249-03	ELEGANT COLORS BLANCO	PLOMO	2,35 ppm
249-04	ELEGANT COLORS AZUL	PLOMO	2,39 ppm

Muestra Proporcionados por el Cliente.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA

UNIDAD DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICOS



RESULTADO DE ANÁLISIS DETERMINACIÓN DE PLOMO

CODIGO DE MUESTRA USAQ	CODIGO Y REFERENCIA DEL CLIENTE	DETERMINACION	RESULTADOS
249-05	MARCA ELEGANT COLORS NEGRO	PLOMO	1,73 ppm
249-06	KIT DE MAQUILLAJE ANGELITO ROJO	PLOMO	2,23 ppm
249-07	KIT DE MAQUILLAJE ANGELITO AMARILLO	PLOMO	16,36 ppm
249-08	KIT DE MAQUILLAJE ANGELITO BLANCO	PLOMO	2,51 ppm
249-09	KIT DE MAQUILLAJE ANGELITO AZUL	PLOMO	1,36 ppm
249-10	KIT DE MAQUILLAJE ANGELITO NEGRO	PLOMO	1,73 ppm

Muestra Proporcionada por el Cliente.

RESULTADO DE ANÁLISIS DETERMINACIÓN DE PLOMO

CODIGO DE MUESTRA USAQ	CODIGO Y REFERENCIA DEL CLIENTE	DETERMINACION	RESULTADOS
249-11	MASK COLORS ROJO	PLOMO	4,50 ppm
249-12	MASK COLORS AMARILLO	PLOMO	47,88 ppm
249-13	MASK COLORS BLANCO	PLOMO	2,62 ppm
249-14	MASK COLORS AZUL	PLOMO	2,57 ppm
249-15	MASK COLORS VERDE	PLOMO	1,20 ppm
249-16	AQUA COLOR ROJO	PLOMO	2,23 ppm

Muestra Proporcionada por el Cliente.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA
UNIDAD DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICOS



RESULTADO DE ANÁLISIS DETERMINACIÓN DE PLOMO

CODIGO DE MUESTRA USAQ	CODIGO Y REFERENCIA DEL CLIENTE	DETERMINACION	RESULTADOS
249-05	MARCA ELEGANT COLORS NEGRO	PLOMO	1,73 ppm
249-06	KIT DE MAQUILLAJE ANGELITO ROJO	PLOMO	2,23 ppm
249-07	KIT DE MAQUILLAJE ANGELITO AMARILLO	PLOMO	16,36 ppm
249-08	KIT DE MAQUILLAJE ANGELITO BLANCO	PLOMO	2,51 ppm
249-09	KIT DE MAQUILLAJE ANGELITO AZUL	PLOMO	1,36 ppm
249-10	KIT DE MAQUILLAJE ANGELITO NEGRO	PLOMO	1,73 ppm

Muestra Proporcionada por el Cliente.

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS FACULTAD DE QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA</p> <p>UNIDAD DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICOS</p>	
---	--	---

RESULTADO DE ANÁLISIS DETERMINACIÓN DE PLOMO

CODIGO DE MUESTRA USAQ	CODIGO Y REFERENCIA DEL CLIENTE	DETERMINACION	RESULTADOS
249-23	SELENE CARITAS PINTADAS MAQUILLAJE ARTISTICO BLANCO	PLOMO	2,55 ppm
249-24	SELENE CARITAS PINTADAS MAQUILLAJE ARTISTICO AZUL	PLOMO	1,93 ppm
249-25	SELENE CARITAS PINTADAS MAQUILLAJE ARTISTICO VERDE	PLOMO	2,26 ppm

Muestra Proporcionada por el Cliente.

Método:

Determinación de Metales por Absorción Atómica con Horno de Grafito Metales GFAAS USAQ-ME-15



Quím. María Angélica Rodríguez Best
 Directora de la USAQ
 COP: 597

Nota: El presente informe sólo es válido en su estado original y se refiere únicamente a la muestra analizada, cualquier corrección o enmienda en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.

Observ.: La muestra podrá ser devuelta después del plazo de 15 días calendario de entregado el Informe de Ensayo, pasado ese tiempo no se aceptarán reclamos ni devoluciones y la muestra pasará automáticamente al proceso de deshechos.

ANEXO N°4: NIVEL MÁXIMO DE PLOMO RECOMENDADO POR LA FDA EN PRODUCTOS COSMÉTICOS

*Contains Nonbinding Recommendations
Draft-Not for Implementation*

Lead in Cosmetic Lip Products and Externally Applied Cosmetics: Recommended Maximum Level Guidance for Industry

Draft Guidance

This guidance is being distributed for comment purposes only.

Although you can comment on any guidance at any time (see 21 CFR 10.115(g)(5)), to ensure that the agency considers your comment on this draft guidance before it begins work on the final version of the guidance, submit either electronic or written comments on the draft guidance within 60 days of publication in the *Federal Register* of the notice announcing the availability of the draft guidance. Submit electronic comments to <http://www.regulations.gov>. Submit written comments to the Division of Dockets Management (HFA-305), Food and Drug Administration, 5630 Fishers Lane, rm. 1061, Rockville, MD 20852. All comments should be identified with the docket number listed in the notice of availability that publishes in the *Federal Register*.

For questions regarding this draft document contact the Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) at 240-402-1130.

U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Food Safety and Applied Nutrition

December 2016

*Contains Nonbinding Recommendations
Draft-Not for Implementation*

Table of Contents

I. Introduction

II. Background

III. Discussion

- A. Recommended Maximum Lead Level in Cosmetic Lip Products and Externally Applied Cosmetics**
- B. Exposure Assessment and Public Health Impact of Recommended Maximum Lead Level in Cosmetic Lip Products and Externally Applied Cosmetics**
 - 1. Exposure to Lead from Cosmetic Lip Products**
 - 2. Exposure to Lead from Externally Applied Cosmetics**
 - 3. Public Health Impact of Recommended Maximum Lead Level in Cosmetic Lip Products and Externally Applied Cosmetics**
- C. Enforcement Policy for Lead in Cosmetic Lip Products and Externally Applied Cosmetics**

IV. References

Contains Nonbinding Recommendations

Draft-Not for Implementation

Lead in Cosmetic Lip Products and Externally Applied Cosmetics: Recommended Maximum Level¹ Guidance for Industry

This draft guidance, when finalized, will represent the current thinking of the Food and Drug Administration's (FDA or we) on this topic. It does not establish any rights for any person and is not binding on FDA or the public. You can use an alternative approach if it satisfies the requirements of the applicable statutes and regulations. To discuss an alternative approach, contact the FDA staff responsible for this guidance as listed on the title page.

I. Introduction

This guidance provides a recommended maximum level of 10 parts per million (ppm) for lead as an impurity in cosmetic lip products and externally applied cosmetics that are marketed in the United States. FDA (or "we") has concluded that a recommended maximum level of 10 ppm for lead as an impurity in cosmetic lip products and externally applied cosmetics would not pose a health risk. We consider the recommended maximum lead level to be achievable with the use of good manufacturing practices and to be consistent with the 10 ppm maximum lead level for similar products recommended by other countries. For additional discussion of the scientific and legal background and rationale underlying this recommended level, see "Supporting Document for Recommended Maximum Lead Level in Cosmetic Lip Products and Externally Applied Cosmetics" (<http://www.fda.gov/Cosmetics/GuidanceRegulation/GuidanceDocuments/ucm517327.htm>).

The issuance of this guidance supports our effort to limit human exposure to lead in finished FDA-regulated cosmetic products by educating new manufacturers who wish to enter the market and encouraging current manufacturers to continue to follow or improve on voluntary good manufacturing practices that limit trace amounts of lead as an impurity. This guidance applies to cosmetic lip products (such as lipsticks, lip glosses, and lip liners) and externally applied cosmetics (such as eye shadows, blushes, shampoos, and body lotions) marketed in the United States.² This guidance does not apply to topically applied products that are classified as drugs or to hair dyes that contain lead acetate as an ingredient.

¹ This guidance has been prepared by the Office of Cosmetics and Colors in the Center for Food Safety and Applied Nutrition at the U.S. Food and Drug Administration.

² Cosmetic lip products are applied to the mucous membrane and therefore are not considered externally applied cosmetics (See 21 CFR 70.3(v)).

Contains Nonbinding Recommendations
Draft-Not for Implementation

FDA's guidance documents, including this guidance, do not establish legally enforceable responsibilities. Instead, guidances describe our current thinking on a topic and should be viewed only as recommendations, unless specific regulatory or statutory requirements are cited. The use of the word *should* in FDA guidances means that something is suggested or recommended, but not required.

II. Background

We regulate cosmetics under the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FD&C Act) and Fair Packaging and Labeling Act (FPLA). These laws require that cosmetics marketed in the United States be safe under their intended and customary conditions of use, and be properly labeled. Cosmetics are not subject to pre-market approval by FDA. However, pre-market approval is required for the color additives used as ingredients in cosmetics.

Although we have not set limits for lead as an impurity in cosmetics, most listed color additives have specifications for lead as an impurity as part of our requirements for their safe use. This guidance supports our effort to limit human exposure to lead in finished products by recommending a maximum level of 10 ppm lead as an impurity in cosmetic lip products and externally applied cosmetics.

The International Cooperation on Cosmetics Regulation and regions such as Canada and the European Union have set a limit of 10 ppm for lead as an impurity in cosmetics based on considerations of a reasonably achievable level, scientific risk assessment, good manufacturing practices, technical feasibility, and appropriate analytical methods (Refs. 1, 2). This guidance is consistent with those efforts.

III. Discussion

A. Recommended Maximum Lead Level in Cosmetic Lip Products and Externally Applied Cosmetics

Between 2007 and 2009, FDA scientists developed and validated a total dissolution method for analyzing lead in lipstick and used this method to determine the lead content in a selection of 20 commercially available lipsticks on the U.S. market (Ref. 3). In 2010, using the same analytical method, we obtained results for lead content in 400 lipsticks and other cosmetic lip products available in the U.S., and in 2012, obtained similar results for an additional 30 cosmetic lip products (Refs. 4, 5, 6, 7). Finally, between 2012 and 2013, we used a more common extraction method for determining lead in an additional 29 cosmetic lip products (Ref. 7). The lead levels found in our surveys ranged from 0.026 ppm (the detection limit of the total dissolution method for the studies) to a maximum of 7.19 ppm in one lipstick. The average lead concentration was 1.09 ppm.

Between 2011 and 2012, we used a total dissolution method to obtain results for lead content in 120 externally applied cosmetic products available on the U.S. market, which included eye shadows, blushes, body lotions, mascaras, foundations, body powders, compact powders,

Contains Nonbinding Recommendations

Draft-Not for Implementation

shaving creams, and face paints (Refs. 6, 7). Between 2012 and 2013, we used the extraction method for determining lead in an additional 86 externally applied cosmetics (Ref. 7). The lead levels found in our surveys ranged from 0.0084 ppm (the detection limit of the total dissolution method for these studies) to a maximum of 14 ppm in one eye shadow and one blush. The average lead concentration ranged from below the detection limit in shaving creams to 4.6 ppm in compact powders.

These surveys indicate that levels of lead in the cosmetic lip products and externally applied cosmetics we have sampled are for the most part well below 10 ppm, leading us to expect that this recommended maximum level is achievable by all manufacturers of these products. However, in our surveys, which do not necessarily reflect the full range of products that are currently on the market, a small number of samples had lead levels that exceed the maximum level we are recommending. Our goal is to ensure that cosmetic lip products and externally applied cosmetics do not contain lead as an impurity at levels that would pose a health risk. We have determined that a maximum level of 10 ppm in cosmetic lip products and externally applied cosmetics would not pose a health risk, but we encourage manufacturers of these products to follow or continue to follow manufacturing practices that allow them to achieve levels of lead lower than 10 ppm whenever feasible.

We have concluded that a maximum level of 10 ppm for lead as an impurity in cosmetic lip products and externally applied cosmetics should be readily achievable by manufacturers that source their ingredients appropriately and use good manufacturing practices. Modern analytical capability permits determination of lead at ppm levels, thus enabling manufacturers to avoid the purchase of ingredients with unacceptably high levels of lead and to determine whether lead is introduced into their products during the manufacturing process.

B. Exposure Assessment and Public Health Impact of Recommended Maximum Lead Level in Cosmetic Lip Products and Externally Applied Cosmetics

As explained in more detail in our supporting document, the routes of exposure to lead from cosmetic lip products are incidental ingestion and dermal absorption and the route of exposure to lead from externally applied cosmetics is dermal absorption. To assess the exposure to lead from cosmetic lip products and externally applied cosmetic products, we assumed these products contain 10 ppm lead because, as noted above, that impurity level should be readily achievable by manufacturers. Additionally, 10 ppm lead is consistent with the 10 ppm maximum lead level for similar products recommended by the International Cooperation on Cosmetics Regulation and regions such as Canada and the European Union.

1. Exposure to Lead from Cosmetic Lip Products

The composition of cosmetic lip products limits the ability for lead present as an impurity to diffuse from a product and be absorbed by the skin. Therefore, dermal absorption of lead from cosmetic lip products is negligible, and we have concluded that systemic exposure to lead from these products is primarily by incidental ingestion.

Contains Nonbinding Recommendations

Draft-Not for Implementation

We used an approach previously employed by FDA for estimating exposure to lead from food to estimate exposure to lead from cosmetic lip products (Ref. 8). We estimated that maximum exposure to 10 ppm lead from a cosmetic lip product is 0.24 $\mu\text{g}/\text{day}$ for adults and adolescents age 13 years or older and 0.024 $\mu\text{g}/\text{day}$ for children age 12 years or younger (assuming that children age 12 years or younger use 10% as much of these products as adults) (Ref. 9). We determined that the potential elevation of blood lead levels from 10 ppm lead in these products is too small to be measured in routine blood analysis and requires state of the art analytical technology (Ref. 10).

2. Exposure to Lead from Externally Applied Cosmetics

Dermal absorption of lead from externally applied cosmetics is very small. Results for lead uptake by the skin were reported for four lead compounds that resemble cosmetic ingredients (Ref. 11). Based on those data, we estimated that only a very small amount (0.41%) of the lead present as an impurity in an externally applied cosmetic is absorbed by the skin.

The amount of exposure to lead as an impurity in externally applied cosmetics depends on whether the product is a “leave-on” product (such as eye shadow or body lotion) or a “rinse-off” product (such as shampoo or shaving cream). The amount of exposure also depends on how much product is applied to the skin. For example, eye shadows are applied in very small amounts (40 mg/day) and only around the eyes (Ref. 12). Because dermal absorption of lead is so small, we estimated that exposure to 10 ppm lead from an eye shadow is only 1.64×10^{-3} $\mu\text{g}/\text{day}$ for adults and adolescents age 13 years or older and 1.64×10^{-4} $\mu\text{g}/\text{day}$ for children age 12 years or younger (assuming that children age 12 years or younger use 10% as much eye shadow as adults). This means that exposure to lead from an eye shadow is approximately 150 times lower than exposure to lead from a cosmetic lip product.

The amount of exposure to lead as an impurity in a product such as body lotion is higher because average applications are higher (8.7 g/day) (Ref. 9). Based on body surface area calculations from reported height and weight data, we estimated that children age 6-18 use 65% as much body lotion as adults age ≥ 19 and children age 1-5 use 34% as much body lotion as adults age ≥ 19 (Refs. 10, 13). We then estimated that exposure to 10 ppm lead from a body lotion is 0.36 $\mu\text{g}/\text{day}$ for adults age ≥ 19 , 0.23 $\mu\text{g}/\text{day}$ for children age 6-18, and 0.12 $\mu\text{g}/\text{day}$ for children age 1-5. In addition, our surveys found that body lotions actually contain very little lead (0.04 to 0.10 $\mu\text{g}/\text{g}$) (Refs. 6, 7). Therefore, we estimated that exposure to lead from a body lotion containing 0.10 $\mu\text{g}/\text{g}$ (0.10 ppm) lead is 0.0036 $\mu\text{g}/\text{day}$ for adults age ≥ 19 , 0.0023 $\mu\text{g}/\text{day}$ for children age 6-18, and 0.0012 $\mu\text{g}/\text{day}$ for children age 1-5, or 67 times lower for adults and up to 20 times lower for children than exposure to lead from a cosmetic lip product.

Exposure to lead from externally applied cosmetics is up to 150 times lower than exposure to lead from cosmetic lip products. Therefore, the potential elevation of blood lead levels from 10 ppm lead in these products is too small to be measured in routine blood analysis and requires state of the art analytical technology (Ref. 10).

3. Public Health Impact of Recommended Maximum Lead Level in Cosmetic Lip Products and Externally Applied Cosmetics

Contains Nonbinding Recommendations
Draft Not for Implementation

Based on our exposure assessment, we have concluded that a recommended maximum level of 10 ppm for lead as an impurity in cosmetic lip products and externally applied cosmetics would not pose a health risk. The issuance of this guidance supports our effort to limit human exposure to lead in finished FDA-regulated cosmetic products by educating new manufacturers who wish to enter the market and encouraging current manufacturers to continue to follow or improve on voluntary good manufacturing practices that limit trace amounts of lead as an impurity. We consider the recommended maximum lead level to be achievable with the use of good manufacturing practices and to be consistent with the 10 ppm maximum lead level for similar products recommended by other countries.

Lead is a chemical element for which toxicity in humans has been well documented (Ref. 14). It may occur as an impurity in any of the ingredients used in cosmetic lip products and externally applied cosmetics due to its background presence in the environment. Cosmetics manufacturers are responsible for avoiding potentially harmful levels of lead in their finished products. Our data show that over 99% of the cosmetic lip products and externally applied cosmetics on the U.S. market contain lead at levels below our recommended maximum level. Therefore, we encourage firms to continue the manufacturing practices that achieve these lower levels of lead in their finished products.

C. Enforcement Policy for Lead in Cosmetic Lip Products and Externally Applied Cosmetics

FDA is prepared to take enforcement action against any cosmetic lip product or externally applied cosmetic containing lead at levels that may harm consumers. FDA intends to consider several factors in bringing enforcement actions regarding lead in cosmetic lip products and externally applied cosmetics, including the level of lead present, the particular product, and the conditions of use for the product.

IV. References

We have placed the following references on display in the Division of Dockets Management, Food and Drug Administration, 5630 Fishers Lane, rm. 1061, Rockville, MD 20852. You may see them at that location between 9 a.m. and 4 p.m., Monday through Friday. As of December 20, 2016, FDA had verified the Web site address for the references it makes available as hyperlinks from the Internet copy of this guidance, but FDA is not responsible for any subsequent changes to Non-FDA Web site references after December 20, 2016.

1. International Cooperation on Cosmetics Regulation, "Considerations on Acceptable Lead Levels in Cosmetic Products," December 2013, available at <http://iccnet.org/topics/>.
2. Health Canada, "Guidance on Heavy Metal Impurities in Cosmetics," July 20, 2012, available at http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pubs/indust/heavy_metals-metaux_jourds/index-eng.php.
3. Hepp, N. M., Mindak, W. R., and Cheng, J., "Determination of total lead in lipstick: Development and validation of a microwave-assisted digestion, inductively coupled plasma-mass

Contains Nonbinding Recommendations

Draft-Not for Implementation

- spectrometric method," *Journal of Cosmetic Science*, vol. 60, pp. 405-414, 2009.
4. Hepp, N. M., "Determination of total lead in 400 lipsticks on the U.S. market using a validated microwave-assisted digestion, inductively coupled plasma-mass spectrometric method," *Journal of Cosmetic Science*, vol. 63, pp. 159-176, 2012.
5. U.S. Food and Drug Administration, "Limiting Lead in Lipstick and Other Cosmetics," December 2016, available at <http://www.fda.gov/Cosmetics/ProductsIngredients/Products/ucm137224.htm>.
6. Hepp, N. M., Mindak, W. R., Gasper, J. W., Thompson, C. B., and Barrows, J. N., "Survey of cosmetics for arsenic, cadmium, chromium, cobalt, lead, mercury, and nickel content," *Journal of Cosmetic Science*, vol. 65, pp. 125-145, 2014.
7. U.S. Food and Drug Administration, "FDA's Testing of Cosmetics for Arsenic, Cadmium, Chromium, Cobalt, Lead, Mercury, and Nickel Content," December 2016, available at <http://www.fda.gov/Cosmetics/ProductsIngredients/PotentialContaminants/ucm452836.htm>.
8. Carrington, C. D., and Bolger, P. M., "An assessment of the hazards of lead in food," *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 16, pp. 265-272, 1992.
9. Loretz, L. J., Api, A. M., Barraji, L. M., Burdick, J., Dressler, W. E., Gettings, S. D., Han Hsu, H., Pan, Y. H. L., Re, T. A., Renskers, K. J., Rothenstein, A., Scrafford, C. G., and Sewall, C., "Exposure data for cosmetic products: lipstick, body lotion, and face cream," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 43, pp. 279-291, 2005.
10. Centers for Disease Control and Prevention, "National Health and Nutrition Examination Survey," available at <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm>.
11. Bress, W. C., and Bidanset, J. H., "Percutaneous in vivo and in vitro absorption of lead," *Veterinary and Human Toxicology*, vol. 33, pp. 212-214, 1991.
12. Loretz, L. J., Api, A. M. Api, Babcock, L., Barraji, L. M., Burdick, J., Cater, K. C., Jarrett, G., Mann, S., Pan, Y. H. L., Re, T. A., Renskers, K. J., and Scrafford, C. G., "Exposure data for cosmetic products: Facial cleanser, hair conditioner, and eye shadow," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 46, pp. 1516-1524, 2008.
13. El Edelbi, R., Lindemalm, S., and Eksborg, S., "Estimation of body surface area in various childhood ages – validation of the Mosteller formula," *Acta Paediatrica*, vol. 101, pp. 540-544, 2012.
14. Centers for Disease Control and Prevention, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, "Toxicological Profile for Lead," available at <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp13.pdf>.