

ESTUDIO MICROBIOLOGICO DE TALCOS PARA USO HUMANO

Emilia María Valenzuela de Silva, Química Farmacéutica, Profesora Asistente, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional.
Luz Helena Núñez y Martha Inés Gómez, estudiantes de tesis.

RESUMEN

Se desarrolló una técnica para determinar la calidad microbiológica de los talcos para uso humano. Por medio de esta técnica se evaluó el grado de contaminación de 14 muestras de productos de fabricación nacional. Todas las muestras se encontraron dentro de los límites establecidos en cuanto al número de microorganismos viables por gramo. De las 14 muestras estudiadas, tres mostraron contaminación con *Staphylococcus aureus*.

SUMMARY

A technique for the microbiological examination of talc powder was developed. Fourteen samples of products made in Colombia were evaluated by means of this technique. All the samples met the requirements relating the number of viable microorganisms. Three samples were contaminated with *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCCION

El conocimiento cada vez más amplio de la transmisión de enfermedades a través de los cosméticos ha determinado que un buen número de países considere la necesidad de someter estos productos a ciertos estudios encaminados a evaluar tanto su calidad como su inocuidad.

La importancia del control microbiológico de los cosméticos radica en dos razones:

1o. Seguridad del consumidor desde el punto de vista de su salud.

2o. Estabilidad del producto.

En la formulación de los talcos para el cuerpo se utilizan componentes minerales, vegetales y sintéticos; éstos son: talco, carbonato de magnesio, carbonato de calcio, trisilicato de magnesio, óxido de zinc, óxido de titanio, caolín, tierra de diatomeas, almidón de maíz, estearato de zinc, estearato de magnesio, preservativos y perfumes.

Estos componentes influyen en la calidad del producto final según su origen, tratamiento de purificación, condiciones de almacenamiento y tipo de empaque.

Otro factor que influye en la calidad microbiológica de los talcos es el proceso de fabricación, en el cual hay que considerar los operarios, la maquinaria, el agua y el aire.

La cantidad de microorganismos en los talcos es relativamente baja por la carencia de agua. Otra causa de la escasa contaminación que frecuentemente presentan estos productos es el efecto adverso que algunos de los componentes de la formulación, como los perfumes y el carbonato de magnesio, ejercen sobre algunos microorganismos.

Los siguientes géneros de microorganismos han sido clasificados como peligrosos para la salud del usuario cuando se encuentran presentes en los cosméticos porque pueden causar infecciones: *Pseudomonas*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Serratia*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Candida* y *Monilia* (1).

Existen algunas normas relacionadas con la contaminación microbiana de productos farmacéuticos no estériles; así la USP XX dispone que los microorganismos que definitivamente no deben estar presentes en los productos farmacéuticos no estériles, ya que son un riesgo potencial para la salud, son *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (2). La CTFA (Cosmetic Toiletry And Fragance ACT) admite 100-1000 microorganismos aerobios viables por gramo (3). La FDA (Food and Drug Administration) admite igualmente 100-1000 microorganismos aerobios viables por gramo (4). Por su parte la TPF (Toilet Preparation Federation) habla de un número menor o igual a 100 microorganismos aerobios viables por gramo, libre de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

En cuanto a los efectos adversos producidos por el crecimiento de los microorganismos en los talcos y en cosméticos en general, pueden citarse la decoloración, la aparición de malos olores y la deformación del empaque por la producción de gas; además de lo anterior, la aparición de hongos puede ser desconcertante para el consumidor.

El peligro de un cosmético contaminado es mayor cuando la contaminación no es observable, puesto que puede ser utilizado sobre quemaduras o epitelios dañados y causar infecciones.

El método más recomendado para reducir el número de microorganismos iniciales en los talcos es el empleo de radiaciones gamma (5).

En los últimos años se han escrito muchos artículos sobre la contaminación microbiana de los cosméticos y sobre los métodos empleados para determinarla.

Los ensayos realizados para determinar el número de microorganismos por gramo reportan el uso de diluyentes a los cuales se les adicionan sustancias que bajan la tensión superficial del agua, así como humectantes. Estos últimos son necesarios debido al poder adsorbente de los talcos los cuales pueden retener los microorganismos dando como resultados datos de recuentos que no son confiables.

También es necesario inhibir los preservativos y la posible acción bactericida de algunos de los componentes de la formulación como el carbonato de magnesio y los perfumes.

Entre los diluyentes ensayados se encuentran: solución salina, solución Ringer, buffer de fosfatos, agua peptonada.

Los humectantes más usados son: Tween 20, 60, 80, citrato de sodio y monoestearato de glicerilo.

Un solvente que ha dado buenos resultados es el compuesto por buffer de fosfatos, solución salina y Tween 80 (3).

Según otros autores se mejoran los resultados si el solvente para suspender las muestras contiene, además de Tween 80, peptona de caseína y lecitina de soya (6, 7, 8).

El presente trabajo tuvo como objetivos desarrollar una técnica adecuada que permita evaluar la calidad microbiológica de los talcos para el cuerpo y determinar el grado de contaminación microbiológica presente en algunos de ellos.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestras analizadas, composición y nomenclatura adoptada.

Muestra No.	Composición
1-2-3-4	Talco, carbonato de magnesio, perfume.
5-6	Talco, triclorohidrofenileter, perfume.
7-8	Ácido bórico, cloruro de benzalconio, óxido de zinc, almidón de maíz, talco.

- | | |
|----|---|
| 9 | Talco, almidón de maíz, ácido bórico, óxido de zinc, Irgasan DP 300, aceite de eucalipto, alcanfor, aceite de maíz, aceite mineral. |
| 10 | Oxido de zinc, ácido bórico, Irgasan, alcanfor, talco, almidón de maíz. |
| 11 | Talco, undecilinato de zinc, almidón de maíz, perfume, triclosan, mentol, estearato de magnesio. |
| 12 | Talco, óxido de zinc, estearato de magnesio, sílice, carbonato de magnesio, perfume. |
| 13 | Talco, perfume. |
| 14 | Talco, óxido de zinc, perfume. |

Inhibición del preservativo

a) Por el método de las diluciones

De una muestra de talcos, escogida al azar pero que contenía preservativo, se pesaron 10 gramos en condiciones asépticas, se suspendieron en 90 ml de agua y se diluyeron en solución salina hasta 10^{-10} . De cada dilución se sembró 1 ml en agar nutritivo por el método de vertido en caja. Las cajas se incubaron a 37°C durante 24 horas. Después de este tiempo no se observó crecimiento en ninguna de las diluciones.

b) Por el empleo de diferentes solventes

Como el método de las diluciones no dio buen resultado se ensayaron los siguientes solventes, con el objeto de inhibir el preservativo: a) Solución de buffer de fosfatos pH 7.2 (0.25M). b) Solución de Tween 80 (2%). c) Solución de peptona al 2% y Tween 80 (5%).

Para comprobar la eficacia de estos solventes como inhibidores del preservativo se utilizó un cultivo de *Staphylococcus aureus* con el cual se contaminó la muestra a ensayar.

El crecimiento se evaluó en forma cualitativa y se encontraron los mejores resultados con la solución de Tween 80 al 2%, puesto que el número de colonias fue similar al que se halló en el experimento efectuado sin talco y por lo tanto sin preservativo.

Elección del solvente para suspender la muestra

Se ensayaron diferentes solventes de los recomendados por la literatura. El mejor resultado se obtuvo con una solución de peptona de caseína (2%), lecitina de soya (0.5%) y Tween 80 (2%).

Tiempo y temperatura de agitación

Se ensayaron dos temperaturas: 36° y 45°C y diferentes tiempos: $1/2$, 1, $1\frac{1}{2}$, 2 y 12 horas. Las condiciones óptimas fueron $1\frac{1}{2}$ horas a 36 ó 45°C. Entre estas dos temperaturas no se encontraron diferencias notorias.

Método de recuento para microorganismos aerobios y anaerobios

Se ensayaron los métodos de vertido en placa y el del número más probable. Para bacterias se escogió el del número más probable (NMP) porque debido a la baja contaminación de los talcos, el crecimiento en las cajas, cuando se utiliza el método de vertido, no es significativo. Para el recuento de hongos se ensayó el método de vertido en placa en Agar Sabouraud.

En los diagramas números 1, 2, 3 y 4 se encuentran anotados los pasos seguidos en los ensayos realizados.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la determinación del grado de contaminación microbiana de algunos talcos para el cuerpo están consignados en las tablas 1, 2 y 3.

En ninguna de las muestras se encontró *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, ni *Pseudomonas aeruginosa*. En las muestras 1, 9 y 13 se encontró *Staphylococcus aureus*.

DIAGRAMA No. 1

METODO PARA RECUENTO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESOFILOS VIABLES

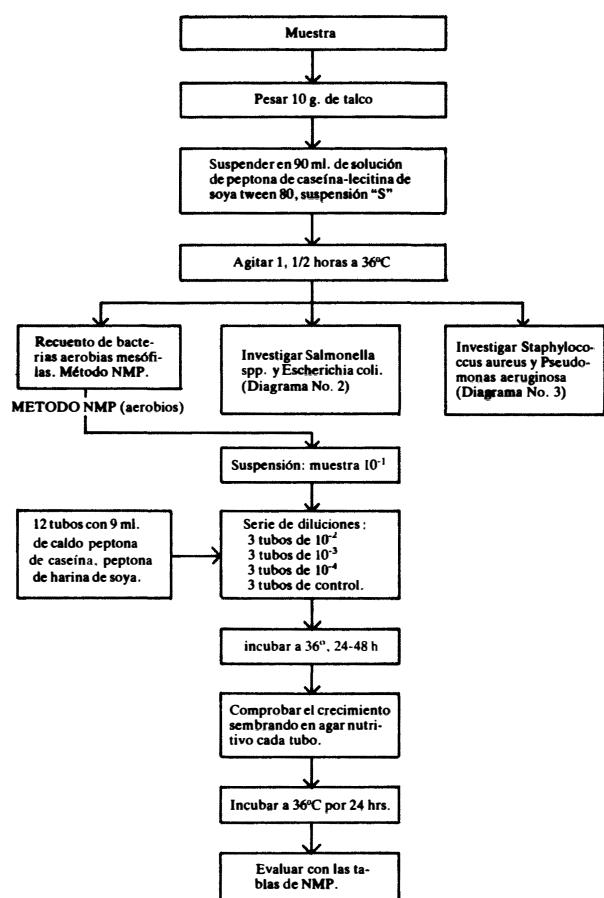


DIAGRAMA No. 2

IDENTIFICACION DE SALMONELLA SP. Y ESCHERICHIA COLI.

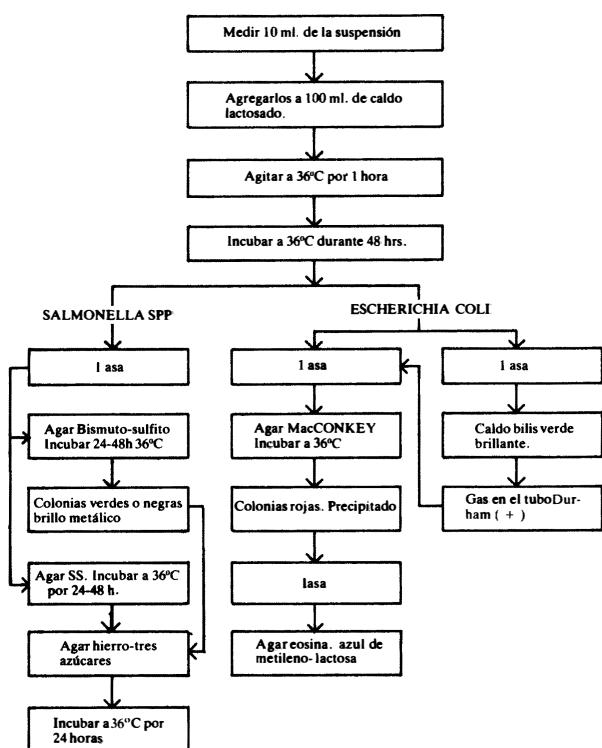


DIAGRAMA No. 3

IDENTIFICACION DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS Y PSEUDOMONAS AERUGINOSA

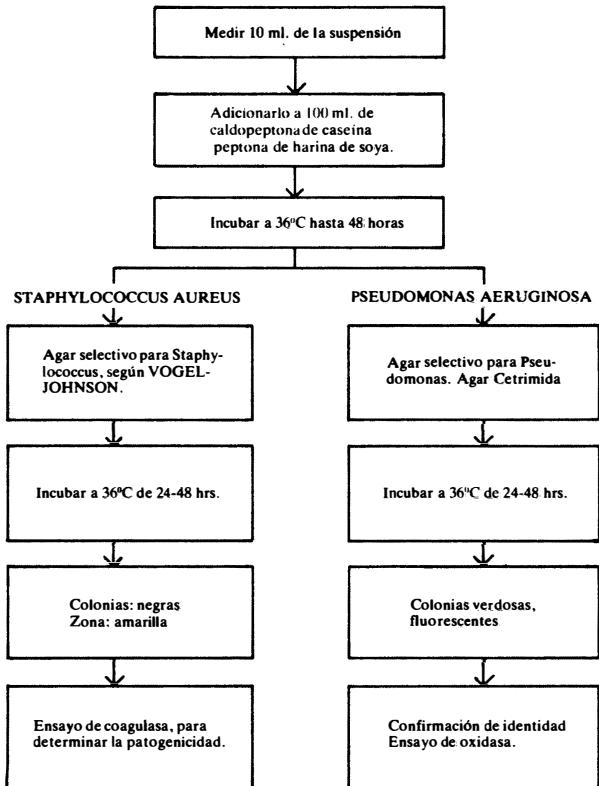
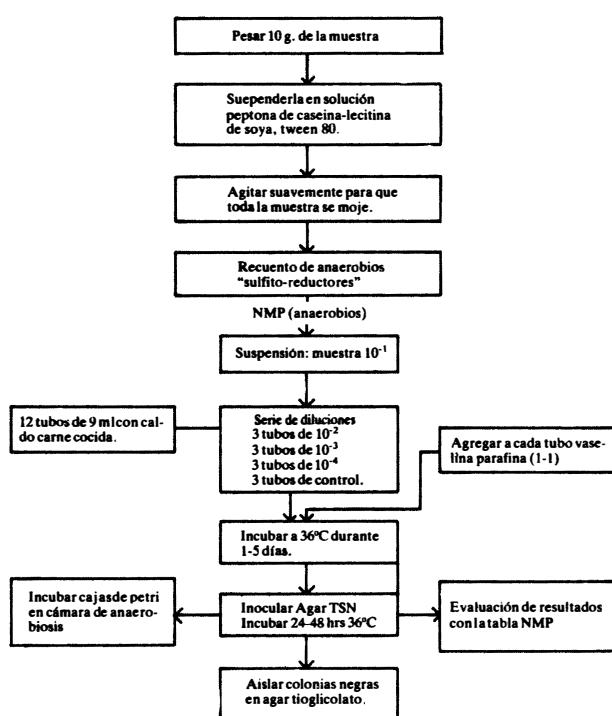


DIAGRAMA No. 4
METODO PARA RECUENTO DE ANAEROBIOS "SULFITO REDUCTORES"
**TABLA No. 1**
NUMERO DE MICROORGANISMOS MESOFILOS AEROBIOS POR GRAMO. METODO NMP.

Muestra Microorg/g	Muestra Microorg/g.	Muestra Microorg/g
1 230	5 930	10 40
2 70	6 210	11 90
3 210	7 90	12 150
4 430	8 230	13 70
	9 150	14 930

TABLA No. 2
NUMERO DE MICROORGANISMOS ANAEROBIO SULFITO-REDUCTORES POR GRAMO. METODO NMP.

Muestra Microorg/g	Muestra Microorg/g	Muestra Microorg/g.
1 0	5 150	10 0
2 70	6 0	11 70
3 0	7 90	12 70
4 0	8 0	13 0
	9 200	14 90

TABLA No. 3
**RECUENTO DE HONGOS
-METODO DEL VERTIDO EN PLACA**

Muestra	Hongos/g	Muestra	Hongos/g	Muestra	Hongos/g.
1	30	5	0	10	30
2	30	6	30	11	0
3	0	7	0	12	30
4	0	8	0	13	0
		9	30	14	0

DISCUSION DE RESULTADOS

- El recuento de bacterias por el método de vertido en placa, cuando se analiza la calidad microbiológica de los talcos cosméticos, presenta dos problemas a saber:
 - No es lo suficientemente sensible
 - Puede prestarse a confusiones, conduciendo lógicamente a la obtención de resultados falsos, ya que las partículas de talco pueden confundirse, en algunos casos, con colonias de un determinado microorganismo, lo mismo que una colonia puede confundirse con una partícula; por las dos razones anotadas anteriormente, es recomendable que cuando se trate de analizar microbiológicamente muestras que posean una carga microbiana baja como los talcos, se utilice un método que obvie estas dificultades como el método del número más probable, NMP, que se adapta para esta clase de muestras, dando resultados reales.
- Cuando se desea evaluar la calidad microbiológica de sustancias insolubles en agua, como es el caso de los talcos, es necesarios elaborar una suspensión con un diluente apropiado y adicionar además mínimas cantidades de algunas sustancias humectantes como el tween 80, lo mismo que otros componentes como la peptona y la lecitina de soya; estas dos últimas para brindar a los microorganismos posibilidad de regeneración.
- La dilución de la muestra sirve para disminuir la actividad del preservativo y resuelve además el problema de la adsorción de algunos microorganismos por las partículas de talcos, mediante una adecuada agitación de la suspensión la cual permitirá en primer lugar la liberación de los microorganismos y además la toma de una muestra homogénea adecuada, para un correcto análisis cuantitativo. Esta es otra de las razones por las cuales el método del número más probable es más efectivo para el recuento de microorganismos en talcos.
- Para una correcta evaluación de un talco cosmético se debe hacer la determinación de microor-

- ganismos sulfito reductores por el método de número más probable, NMP, en condiciones de anaerobiosis estricta.
5. Los talcos cosméticos, como producto terminado, pueden resultar autopreservados por dos razones primordiales:
 - a. Las condiciones desfavorables como la escasa cantidad de agua y nutrientes, la cual limita la proliferación de microorganismos por las condiciones inhóspitas que encuentran en ellos.
 - b. La actividad antibacteriana que poseen algunos de los componentes de su formulación como son los perfumes y el carbonato de magnesio, la cual se sinergiza cuando estos componentes se encuentran asociados.
 6. De las 14 muestras analizadas para el recuento de aerobios por el método del número probable, cinco presentaron una contaminación menor al límite inferior establecido por la CTFA, la FDA y la TPF. Las nueve muestras restantes presentaron contaminación dentro de los límites establecidos, de 100 a 1000 microorganismos viable por gramo.
 7. Solo cinco muestras de las 14 analizadas presentaron contaminación con hongos. Esta contaminación es muy baja, menor de 30 microorganismos por gramo de muestra.
 8. En tres muestras de talcos se comprobó la presencia de *Staphylococcus aureus*; estas muestras no cumplen con las normas de la USP y la TPF. Este microorganismo proviene posiblemente de operarios portadores.

BIBLIOGRAFIA

1. Mc CARTHY T.J., Cosmetics and Toiletries, 95, 23-27, 1980.
2. The United States Pharmacopeia, XX revisión, United States Pharmacopeial Convention, Mack Printing Co., 1985.
3. FERREIRA J.M., and FREITAS Y.M., Cosmetics and Toiletries, 91, 19, 1976.
4. F.D.A. Bacteriological Analytical Manual, Chapter XXIII, Microbiological Methods for Cosmetics, Joseph M. Modden, División of Microbiology, Food and Drug Administration, 1979.
5. JACOBS G.P., Cosmetics and Toiletries, 96, 51-55, 1981.
6. PAVANETTO F., MONTANARY L., MAZZA M., Farmaco FD Prat., 33, 263-270, 1978.
7. RICHARDSON E.L., Cosmetics and Toiletries 92, 85-86, 1977.
8. ANDERSON D.W. and AYERS M., Journal of the Society of Cosmetics Chemists, 23, 863-873, 1972.