



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DETERMINACIÓN DE *Candida albicans* EN LABIALES

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTOR: MICHAEL ALEXANDER ARIAS IÑIGUEZ

DIRECTORA: B.Q.F MA VIVIANA ARAUJO CAMPOVERDE MSc

CUENCA - ECUADOR

2023

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DETERMINACIÓN DE *Candida albicans* EN LABIALES

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTOR: MICHAEL ALEXANDER ARIAS IÑIGUEZ

DIRECTORA: B.Q.F MA VIVIANA ARAUJO CAMPOVERDE MSc

CUENCA - ECUADOR

2023

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Michael Alexander Arias Iñiguez portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **1104871627**. Declaro ser el autor de la obra: “**Determinación de *Candida albicans* en labiales**”, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, 16 de agosto de 2023



F:

Michael Alexander Arias Iñiguez

C.I. 1104871627

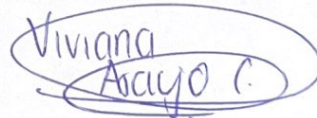
Certificación del Tutor

B.Q.F María Viviana Araujo Campoverde MsC
**DOCENTE DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR.
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado “**Determinación de *Candida albicans* en labiales**”, realizado por **Arias Iñiguez Michael Alexander**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, agosto de 2023



.....
B.Q.F María Viviana Araujo Campoverde MsC

C.I.: 0105996789

DEDICATORIA

A mis padres, por apoyar mi esfuerzo y dedicación durante toda mi formación universitaria y respetar todas mis decisiones tomadas.

LISTA DE ABREVIATURAS

ARCSA: Agencia Nacional de Regulación, Contro, y Vigilancia Sanitaria

BSC: Cabina de Seguridad Biológica

CAN: Comunidad Andina de Naciones

CFR: Código de Regulación Federal

MLB: Modified Letheen Broth (Caldo Letheen Modificado)

NSO: Notificación Sanitaria Obligatoria

PAO: Periodo después de su apertura

UFC: Unidades formadoras de colonias

RESUMEN

Introducción. *Candida albicans* (*C.albicans*) es una levadura presente naturalmente en las mucosas del organismo humano, sin embargo, cuando existe una alteración en el sistema inmune dicha levadura puede presentarse como placas blanquecinas en las mucosas afectadas. Además, la presencia de patologías que puedan afectar zonas cercanas a ciertas mucosas o la existencia de lesiones cerca de las mismas, convierte a estas zonas en un medio idóneo para la proliferación de esta levadura.

Objetivo: El objetivo de esta investigación fue determinar la presencia de *Candida albicans* en labiales expendidos en la ciudad de Cuenca, determinar el crecimiento en en agar sabouraud dextrosa cloranfenicol y determinar el número de unidades formadoras de colonias (UFC).

Metodología. Dentro de este contexto, en este trabajo de investigación se determina la presencia de *Candida albicans* en 15 labiales expedidos en determinados puntos de la ciudad de Cuenca, empleando el método de ensayo para la determinación de *Candida albicans* en cosméticos, establecido por la FDA.

Resultados. Como resultado del estudio experimental, se identifica la ausencia de *Candida albicans* en las muestras de labiales tomadas.

Conclusión. La ausencia de *Candida albicans* en la muestra de labiales evidencia la posible presencia de parabenos dentro de la formulación de los mismos, los cuales impidieron el crecimiento de levaduras en agar Sabouraud dextrosa cloranfenicol.

PALABRAS CLAVE: *Candida albicans*, labiales, cosméticos, levadura, NSO.

ABSTRACT

Introduction. *Candida albicans* (*C.albicans*) is a natural yeast present in the mucous membranes of the human organism; however, when there is an alteration in the immune system, this yeast can present itself as whitish plaques on the affected mucous membranes. In addition, the presence of pathologies that may affect areas near specific mucous membranes or lesions near them, makes these areas an ideal environment for the proliferation of this yeast.

Objective: The objective of this research was to determine the presence of *Candida albicans* in lipsticks sold in the city of Cuenca, to determine the growth in sabouraud dextrose chloramphenicol agar, and to determine the number of Colony Forming Units (CFU).

Methodology. Within this context, this research work determines the presence of *Candida albicans* in 15 lipsticks issued in specific locations of the city of Cuenca, using the test method to determine *Candida albicans* in cosmetics established by the FDA.

Results. As a result of the experimental study, the absence of *Candida albicans* was identified in the lipstick samples taken.

Conclusion. The absence of *Candida albicans* in the lipstick samples evidences the possible presence of parabens in the formulation, which prevented the growth of yeasts in Sabouraud dextrose chloramphenicol agar.

KEYWORDS: *Candida albicans*, lipsticks, cosmetics, yeast, NSO.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	2
1.2	JUSTIFICACIÓN.....	3
1.3	PREGUNTA CIENTÍFICA.....	4
1.4	HIPOTESIS	4
1.5	OBJETIVOS.....	4
1.5.1	Objetivo General.....	4
1.5.2	Objetivos Específicos	4
2	MARCO TEÓRICO	5
2.1	Antecedentes	5
2.2	Marco referencial	5
2.2.1	Características microbiológicas de <i>Candida albicans</i>	5
2.2.2	Infecciones por <i>Candida albicans</i>	6
2.2.3	Morfofisiología de los labios.....	6
2.2.4	Producto cosmético	7
2.2.5	Labiales.....	7
2.2.6	Información técnica para la obtención de la NSO	14
2.2.7	Requisitos de etiquetado y comercialización	14
3	METODOLOGÍA.....	16
3.1	Diseño de investigación y nivel	16
3.2	Población y muestra	16
3.3	Definición y clasificación de las variables	16
3.4	Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos	17
3.4.1	Técnicas e instrumentos:	17
3.5	Preparación preliminar de la muestra	21
3.5.1	Productos a base de crema y aceite.....	21
3.5.2	Aislamiento y cultivo	21
3.5.3	Pruebas bioquímicas.....	21
3.6	Procedimientos estadísticos y análisis de datos.....	22

3.7	Aspectos éticos.....	22
4	RESULTADOS Y DISCUSIONES	23
4.1	RESULTADOS.....	23
4.2	DISCUSIÓN.....	26
5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	28
5.1	CONCLUSIONES	28
5.2	RECOMENDACIONES.....	28
6	BIBLIOGRAFÍA	30
7	ANEXOS.....	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1. Excipientes utilizados en la elaboración de labiales.	8
Tabla 2-2. Colorantes más usados según la FDA.....	10
Tabla 2-3. Parámetros fisicoquímicos de los labiales.	13
Tabla 2-4. Límites permisibles en pruebas microbiológicas en cosméticos.	13
Tabla 3-1. Ingredientes del MLB.....	20
Tabla 3-2. Ingredientes del Agar Sabouraud dextrose cloranfenicol.	20
Tabla 3-3. Ingredientes del Agar harina de maíz 1% con polysorbato 80.	21
Tabla 4-1. Control de la esterilidad de los reactivos previo al análisis de la muestra.	24
Tabla 4-2. Control de esterilidad del agar sabouraud dextrosa cloranfenicol.....	25
Tabla 4-3. Análisis del cultivo de labiales en agar sabouraud dextrosa cloranfenicol.....	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2-1. Proceso de fabricación de labiales en barra.....	10
Figura 4-1. Labiales empleados para el desarrollo de la investigación	23

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Preparación del caldo de enriquecimiento MLB.....	33
Anexo 2. Administración de 1mL de tween 80 en cada uno de los tubos de ensayo tapa rosca.	34
Anexo 3. Esterilización del tween 80 y MLB.....	34
Anexo 4. Corte y pesado de 1g de labial con cuchillas estériles, sobre portaobjetos estériles.	35
Anexo 5. Elaboración del tubo de control de tween80 y los tubos de muestra que posee 1 g de labial, 1mL de tween 80 y 8 ml de MLB.....	36
Anexo 6. Incubación de los tubos con la muestra de estudio a 32.5 °C por 22 horas.	37
Anexo 7. Esterilización del agar sabouraud dextrosa cloranfenicol.....	37
Anexo 8. Administración del agar sabouraud dextrosa cloranfenicol en cajas petri.....	38
Anexo 9. Cultivo de la muestra en agar sabouraud dextrosa cloranfenicol.....	38
Anexo 10. Incubación de los medios de cultivo.....	39
Anexo 11. Método establecido por la FDA para la determinación de Candida albicans en cosméticos.....	40
Anexo 12. Autorización de publicación en el repositorio institucional.....	45

CAPÍTULO I

1 INTRODUCCIÓN

Los labiales son productos cosméticos destinados al uso en la zona de los labios, cerca de la mucosa bucal. Nacen con el objetivo de humectar y proteger los labios de factores externos como son las temperaturas bajas; sin embargo, su uso fue variando, hasta convertirse en un cosmético estético.

Estos cosméticos son elaborados de forma masiva en grandes industrias cumpliendo con requisitos técnico-sanitarios, fisicoquímicos y microbiológicos durante su elaboración, siendo estos requisitos regulados y aprobados por entidades sanitarias. Sin embargo, últimamente se ha visto un incremento de cosméticos clandestinos o réplicas, con costos inferiores a los originales, pero sin registro sanitario. Estos cosméticos se comercializan de manera informal en mercados, tiendas y puestos informales y su uso puede permitir la instauración de microorganismos en los labios.

Es por ello que, es importante garantizar la inocuidad y seguridad de un producto cosmético para el consumidor. En el Ecuador, esto se garantiza obteniendo una Notificación Sanitaria Obligatoria (NSO) otorgada por la Agencia Nacional de Regulación Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA). Dicha inocuidad inicia por la elección de la materia prima, que incluye el uso de pigmentos aprobados por la FDA, implementación de parabenos, empaques sellados, etc.

Por otro lado, *Candida albicans* es una levadura patógena oportunista responsable de la candidiasis; esta levadura se localiza en las mucosas; dentro de las cuales se encuentra la boca, misma que está cubierta por dos pliegues denominados labios(1). Debido a la cercanía de los labios con la mucosa bucal se presume en este trabajo de investigación que estos pliegues pueden ser una fuente de contaminación por *Candida albicans*, y dado su contacto con productos cosméticos como los labiales, convierte a estos últimos en posibles vehículos portadores de *C albicans*, más aún cuando se comercializan de manera informal.

CAPÍTULO II

1.1 PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

La producción y comercialización de productos cosméticos ha tenido un crecimiento vertiginoso en los últimos años, lo que ha dado lugar a la convergencia de dos mercados de oferta, el formal e informal. El mercado formal caracterizado por la venta de productos cosméticos de calidad, que cumplen requisitos técnico-sanitarios, fisicoquímicos y microbiológicos durante su elaboración, y que provienen de grandes y populares casas comerciales. En tanto que, el mercado informal se caracteriza por la venta de cosméticos réplicas o clandestinos, que no cumplen con estándares de calidad ni registro sanitario (2).

La poca asequibilidad que presentan en algunos casos los productos cosméticos de grandes casas comerciales, ha impulsado a los consumidores a optar por la informalidad, adquiriendo cosméticos que se distribuyen y comercializan en diferentes mercados, locales y tiendas menores, e incluso por medios digitales(2,3).

Actualmente, en Ecuador existen regulaciones sanitarias para el control de calidad de productos cosméticos, sin embargo, estas regulaciones no se aplican para todos los cosméticos, principalmente los provenientes del mercado informal. (4)

El expendio de cosméticos sin registro sanitario representa un problema de salud pública a nivel nacional y local. La proliferación de bacterias y hongos en cosméticos de exhibición se presenta principalmente en productos que se aplican directamente en la piel, bases oleosas o acuosas caducadas, mal almacenamiento o contaminación cruzada. El principal mecanismo de transmisión de estos microorganismos inicia por el contagio a mucosas de un individuo, el cual estará en contacto con cosméticos específicos, como es el labial. El uso personal de cosméticos podría evitar la proliferación de estos hongos, sin embargo, el uso compartido de estos productos es algo muy popular dentro de la población (5,6).

El uso de cosméticos fuera del período después de su apertura (PAO) son el ejemplo de una mala práctica de cuidado de la piel, estos alojan gran cantidad de microorganismos, que producen patologías como aspergilosis, infecciones por *Candida*, tiña, entre otras. La PAO hace referencia a la vigencia de excipientes, el más importante dentro de la eliminación de microorganismos se encuentran los preservantes o conservantes; que son los encargados de mantener inocuo un producto (6).

1.2 JUSTIFICACIÓN

Uno de los cosméticos más utilizados y comercializados hoy en día son los labiales, mismos que mejoran y embellecen los labios, sin embargo, si no presentan condiciones óptimas de calidad durante su fabricación, envase y posterior comercialización, pueden causar efectos adversos en la salud de sus consumidores.

Los labiales réplicas o clandestinos, presentan características físicas similares a los labiales de marcas populares y debido a su bajo costo y alta disponibilidad, presentan una gran demanda en el mercado nacional. Sin embargo, la mayor parte de estos productos proporcionan un medio de contaminación microbiológico por su mala manipulación durante su elaboración y posterior expendio, por lo que es necesaria la aplicación y verificación de límites que permitan determinar la calidad de estos productos.

La normativa técnica ecuatoriana, para la determinación de *Candida albicans* (*C.albicans*), se basa en la normativa ISO 18416, en la cual no se hace referencia a la presencia de *C.albicans* en cosméticos de uso externo. Por ende, se omite la patogenia de este hongo en otras mucosas, sin embargo, la candidiasis se puede presentar en cualquier mucosa, como son los labios.

En la ciudad de Cuenca, los mercados son los sitios idóneos para el desarrollo del comercio informal, es por ello que en múltiples de ellos se comercializan productos cosméticos que no presentan un registro sanitario, especificaciones de etiquetado, microbiológicas, etc., e incluso presentan alteraciones en sus propiedades físicas.

Es por ello que, el presente trabajo de investigación tiene como objeto la determinación de la presencia o ausencia de *Candida albicans* en una muestra de labiales expendidos en un mercado de la ciudad de Cuenca, mismos que podrían resultar nocivos para la salud de los consumidores, dadas sus características de fabricación y comercialización.

Además, se debe indicar que, actualmente no existen estudios y normativas nacionales que determinen el nivel de contaminación microbiológica en labiales, lo cual proporciona una relevancia importante a este trabajo de investigación y el aporte de un estudio innovador.

1.3 PREGUNTA CIENTÍFICA

¿Existe *Candida albicans* en labiales expendidos en la ciudad de Cuenca?

1.4 HIPOTESIS

Para el desarrollo del presente trabajo de investigación, se plantea la siguiente hipótesis principal:

- El 40% de los labiales comercializados informalmente en la ciudad de Cuenca poseen *Candida albicans*.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo General

- Determinar la presencia de *Candida albicans* en labiales expendidos en la ciudad de Cuenca.

1.5.2 Objetivos Específicos

- Determinar el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Candida albicans* en una muestra de labiales expendidos en un mercado de la ciudad de Cuenca.
- Determinar el crecimiento de *Candida albicans* en agar sabouraud dextrosa cloranfenicol.
- Establecer las características físicas de comercialización de los labiales obtenidos para el desarrollo del estudio experimental.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Existen varias patologías presentes en la mucosa oral y zonas próximas a estas como son los labios; estas enfermedades suelen desencadenarse por déficit de vitaminas, uso prolongado de ciertos medicamentos que disminuyen el sistema inmune o agotan la flora bacteriana normal, así como procesos estéticos realizados en la cavidad bucal (5). La quelitis angular es una lesión que se presenta en el organismo por déficit de vitamina B y hierro; se caracteriza por presentar fisuras en los ángulos de los labios; estas fisuras son un medio ideal para el crecimiento de microorganismos; un ejemplo de un organismo fácil de proliferar dentro de estas fisuras es *Candida albicans* (7). Esta es una levadura oportunista presente en algunas mucosas, como es el caso de la boca; sin embargo, esta levadura puede encontrarse dentro de algunos tipos de cosméticos aplicados directamente en los labios. *C. albicans* puede instaurarse por contacto directo en cualquier producto cosmético, contaminarlo y utilizarlo de vehículo del microorganismo (8). El uso prolongado de labiales aloja una mayor cantidad de microorganismos en su superficie, es por esto que los cosméticos multidosis son recomendados para uso personal o el uso de aplicadores estériles o descartables posterior a su aplicación en la zona labial (9). Los labiales son un tipo de cosmético multidosis muy utilizado y al aplicarse sobre los labios, se considera para esta tesis como un medio de transmisión de *C. albicans*.

2.2 Marco referencial

2.2.1 Características microbiológicas de *Candida albicans*

Candida albicans es una especie fúngica, morfológicamente presente en tres formas distintas: levaduras, pseudohifas e hifas filamentosas. Las levaduras son células pequeñas y circulares, que se dividen por gemación. Las pseudohifas son estructuras similares a las hifas, sin embargo, poseen un menor tamaño tanto de sus estructuras cilíndricas como de sus septos; finalmente, las hifas son células cilíndricas y alargadas, separadas por septos(10). Esta levadura no se considera transmisible, debido a su presencia dentro del organismo humano, es por esto que la candidiasis se considera una infección endógena.(11)

2.2.2 Infecciones por *Candida albicans*

La presencia de *Candida albicans* en zonas corporales ajenas, puede ser un riesgo de contaminación e infección de la zona, generando complicaciones. Esta produce dos tipos de lesiones: en mucosas y sistémicas. Las lesiones en mucosas se producen por uso de antibióticos que desequilibran la flora vaginal y oral, volviéndola susceptible para la infección por esta levadura; misma que se manifiesta como placas blancas en la lengua, paladar y mucosa vaginal (10,12).

Por otro lado, las infecciones sistémicas son más graves, inducidas por el uso de antineoplásicos e inmunosupresores, en donde todo el organismo se encuentra afectado, por el cual la levadura ingresa al torrente circulatorio, invadiendo principalmente órganos del tracto digestivo; sin embargo, lesiones labiales han permitido también el alojamiento de la levadura (10).

La queilitis, es una patología característica de las comisuras de los labios, esta posee la particularidad de presentar agrietamiento e inflamación en los pliegues muco-cutáneos localizados en los laterales de la apertura de la boca. Gracias a la producción de saliva y el contacto con las lesiones, favorece a la manifestación de candidiasis, una patología ocasionada por *Candida albicans*, que ocasiona ardor, quemazón y la aparición de una membrana blanquecina (7).

2.2.3 Morfofisiología de los labios

Los labios, son pliegues músculo cutáneos movibles que forman la apertura de la boca cubriendo la zona dental; cumplen con funciones fonéticas como la vocalización y digestivas como sujeción y succión de alimentos. No actúa directamente en el sistema digestivo, sin embargo, colabora en el paso previo a la deglución (1).

Pese a que los labios son pliegues cutáneos, no poseen la misma estructura de la piel, debido a que estos poseen fibras musculares y una gran cantidad de eleidina (proteína precursora de queratina) en el estrato lúcido (epidermis), misma que aporta la propiedad de transparencia a los labios. Posterior a la capa de epidermis, se localiza la dermis, caracterizada por la cantidad de irrigación que posee, la cual otorga el color característico a los labios (13,14).

Otra diferencia significativa entre la piel de los labios y el resto del cuerpo humano es la poca producción de melanina en los labios. La melanina, es un biopolímero, capaz de proteger a la piel de la radiación solar. Durante la exposición a la radiación solar, los melanocitos secretan melanina, con el fin de proteger la piel de la radiación ultravioleta (UV) (14).

2.2.4 Producto cosmético

Son todas las sustancias destinadas a ser aplicadas en las superficies corporales, como la piel, labios, genitales externos, cabello, dientes y mucosa bucal. Cumplen con la función de limpiar, perfumar, modificar su aspecto y corregir olores corporales, sin alterar el funcionamiento del organismo (15). También se puede agregar principios activos a estas formulaciones cosméticas, con el fin de otorgar propiedades terapéuticas(16) .

2.2.5 Labiales

2.2.5.1 Historia del labial

La invención de los lápices labiales sólidos se remonta al siglo X en Medio Oriente, durante la era de Oro Islámica, donde tenían forma de crayón y estaban envueltos en seda. Muchos historiadores atribuyen su creación al cosmólogo árabe Abu al Qasim al Zahrawi. Posteriormente, en Europa el uso de pintalabios se volvió popular en el siglo XVI cuando la reina de Inglaterra Isabel I, impuso la moda de pintarse el rostro de blanco y los labios de rojo brillante. En esta época el labial se hacía con tinturas de plantas mezcladas con cera de abeja, y posteriormente entre los siglos VII y X, se comenzaron a agregar aceites perfumados. (17)

En Francia, año 1870, la compañía de cosméticos Guerlain comienza con la comercialización de los labiales. La disponibilidad de este producto en su envase cilíndrico metálico, aún utilizado hoy en día, surge en el año 1915 (18).

Actualmente, los labiales se han convertido en un producto cosmético esencial de uso para muchos consumidores, presentando una gran variedad de colores, formas y texturas, cuya comercialización incrementa acorde a la creciente demanda (18).

2.2.5.2 Características

El labial en la industria cosmética nació desde su uso en 1970, con la intención de proteger los labios, evitando la resequedad y promoviendo la hidratación; sin embargo, la cosmética decorativa adicionó la aplicación de color en los labios, muy aparte de la protección, dando lugar al producto final que se comercializa hoy en día. Estos labiales poseen características de color y textura homogénea y se encuentran compuestos por ceras, aceites, grasas, emolientes, adhesivos, solventes y texturizantes, los cuales no poseen un límite de uso establecido por la FDA (19).

Tabla 2-1. Excipientes utilizados en la elaboración de labiales.

EXCIPIENTE	FUNCIÓN
Parafina	Texturizante
Butil estearato	Dispersante
Ozoquerita	Cera base
Cera microcristalina	Cera base
Alcohol oleico	Emoliente
Lanolina anhidra	Emoliente
Alcohol de lanolina	Plastificante

Fuente: Mawazi, S.M.; Azreen Redzal, N.A.B.; Othman, N.; Alolayan, S.O. (18)

2.2.5.3 Uso de conservantes químicos

Los cosméticos, son el medio ideal para la acumulación de microorganismos, debido a que dentro de su formulación poseen sustancias acuosas, usadas como solventes que permiten el alojamiento, desarrollo y proliferación de microorganismos; además de esto, los labiales, poseen envases multidosis y de ampliación directa sobre la piel, lo cual demanda al uso de conservantes dentro de su formulación (9).

Los conservantes se caracterizan por su efecto microbiocida o microbioestático, que dependerá de la dosis utilizada en la formulación y de la naturaleza del conservante (20).

Es por esto que los conservantes se dividen por su espectro de acción en:

- Conservantes de amplio espectro: actúan contra bacterias, levaduras y hongos, entre ellos tenemos Nitrodioxanos, Ácido salicílico, Glutaraldehído, Formaldehído y Corobutanol (20).
- Conservantes con mayor efecto contra bacterias, como son Clorhexidina, Nitropropanodiolos y Fenoxietanol (20).
- Conservantes con mayor efecto contra levaduras, como son los Parabenos y Benzoato sódico (20).

2.2.5.4 Uso de parabenos en labiales según la FDA

Los parabenos son compuestos químicos, usados como conservantes en productos cosméticos, los cuales poseen un mayor espectro de acción contra levaduras; estos evitarán la proliferación de levaduras y otros microorganismos dentro del producto y por ende su deterioro, preservando la salud del consumidor. Su uso no se encuentra restringido o regularizado por la FDA; esta entidad, considera a los parabenos un ingrediente más dentro de la formulación de cosméticos, sin riesgos científicamente comprobados hasta la actualidad. Los más usados son el Metilparabeno, Propilparabeno, Butilparabeno, Etilparabeno (21).

2.2.5.5 Colorantes aprobados por la FDA para el uso en labiales

Existe una extensa gama de colores aprobados por la FDA para su uso en cosméticos dependiendo de su zona de aplicación, es decir, los colorantes usados para la fabricación de cosméticos de uso externo (piel no cercana a mucosas) no son los mismos colorantes que se usa en cosméticos cercanos a superficies de mucosas. El listado es específico, según su zona de aplicación, con el fin de evitar la adulteración de estos productos y sanciones por parte de la FDA. Los colorantes más usados se presentan en la siguiente tabla (22,23).

Tabla 2-2. Colorantes más usados según la FDA

CFR	COLOR
74.2052	D&C Black No. 2
74.2255	D&C Orange No. 5
74.2333	D&C Red No. 33
74.2336	D&C Red No. 36
742.101	FD&C Blue No. 1
742.203	FD&C Green No. 3
742.205	D&C Green No. 5
742.306	D&C Red No. 6
742.307	D&C Red No. 7
742.321	D&C Red No. 21
742.705	FD&C Yellow No. 5
742.710	FD&C Yellow No. 10

Fuente: FDA (22)

2.2.5.6 Proceso de fabricación de labiales

El proceso de fabricación de labiales en barra sigue el flujograma que se muestra en la siguiente figura (24).

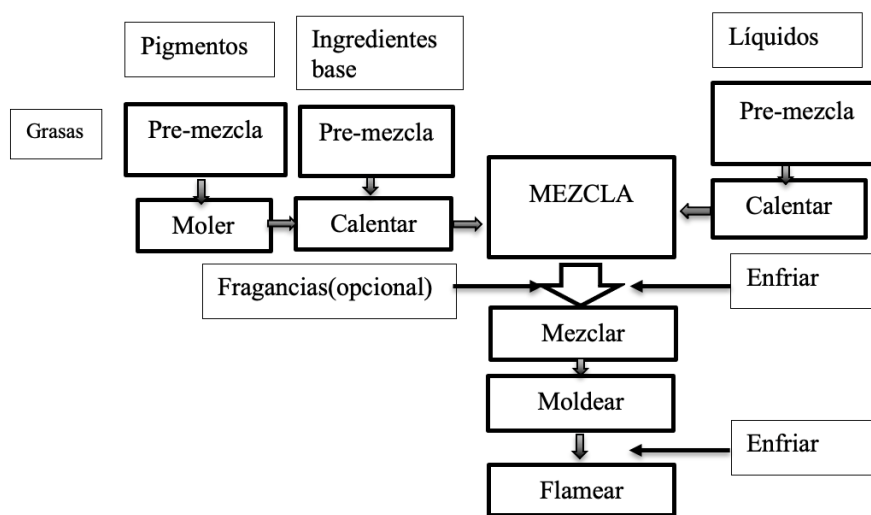


Figura 2-1. Proceso de fabricación de labiales en barra. Fuente: Valenzuela Aguilera, Javiera (24)

Pre-mezcla y calentamiento de pigmentos

Durante este proceso se busca obtener una pasta homogénea del pigmento y el aceite.

Trituración de pigmentos aglomerados

Se destruyen los aglomerados de los pigmentos, obteniendo un polvo fino, que proporcionará un color homogéneo a la mezcla.

Mezcla

La fase oleosa y acuosa se mezclan y se enfrían ligeramente antes de añadir el polvo previamente molido. Si la formulación lleva una fragancia, esta es añadida en este paso; todos estos ingredientes son nuevamente homogeneizados a una temperatura de 70°C hasta obtener una mezcla completamente homogénea.

Moldeo y enfriamiento

Cuando la temperatura se encuentre 10°C sobre el punto de fusión, se vierte en los moldes y se deja enfriar con el fin de aumentar su densidad, se distribuya uniformemente los pigmentos y se mantenga homogénea la mezcla.

Flameo

Se flamea ligeramente la superficie del labial con el fin de dar una forma que facilite la aplicación (24). Sin embargo, no solo es necesaria la realización de este proceso para la elaboración de labiales en barra, sino que también se debe cumplir con ciertos requisitos establecidos por la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA).

Mediante el instructivo externo de “Criterios de evaluación para la categorización del riesgo de productos cosméticos para sistemas de control y vigilancia sanitaria” el ARCSA evalúa cinco parámetros que permitirán categorizar un producto según su nivel de riesgo (25).

Clasificación de productos cosméticos por grado de información:

- Grado 1(Nivel bajo): productos cosméticos con propiedades básicas, que no requiere información detallada de su modo de uso o restricciones.

- Grado 2 (Nivel alto): productos cosméticos que poseen indicaciones específicas, por sus características exige comprobar su seguridad, cuidados, restricciones y modos de uso.

Sustancias utilizadas:

- Sustancias permitidas con rango tolerable (Nivel alto): sustancias e ingredientes que tengan un nivel máximo permitido de uso.
- Sustancias permitidas en todos los casos (Nivel bajo): sustancias e ingredientes cuyo uso sea permitido durante la elaboración de cosméticos.

Susceptibilidad a contaminación microbiológica:

- Nivel alto: productos usados en infantes, que entran en contacto con mucosas y órganos genitales.
- Nivel medio: productos cosméticos susceptibles a contaminación microbiológica.
- Nivel bajo: No requiere análisis microbiológicos.

Tiempo de duración:

- Aplicación regular y prolongada (Nivel alto): productos que se aplican diariamente y se mantiene en la piel de forma prolongada.
- Aplicación regular no prolongada (Nivel medio): productos que se aplican diariamente pero su acción es limitada.
- Aplicación ocasional (Nivel bajo): productos de acción específica, que se aplican ocasionalmente.

Área de aplicación:

- Aplicación extensa sobre la piel y mucosas (Nivel alto).
- Aplicación en el área de los ojos (Nivel alto).
- Aplicación en el cabello (Nivel medio).
- Aplicación en áreas específicas y limitadas de la piel (Nivel bajo).

Estos parámetros deberán ser comprobados y autorizados por el ARCSA, misma que se encargará de otorgar el código de Notificación Sanitaria Obligatoria (NSO).

No obstante, los labiales deben cumplir con ciertos parámetros fisicoquímicos, que permiten su salida al mercado y exonerarse de exámenes microbiológicos, mismos que se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 2-3. Parámetros fisicoquímicos de los labiales.

CONDICIÓN	RANGO
pH ácido	≤ 3
pH alcalino	≥ 10
Soluciones hidroalcohólicas	≥ 20 %
Temperatura de llenado	≥ 65,0 °C
Actividad del agua	≤ 0,75
Productos de base solventes	Sin límite
Productos oxidantes	Sin límite
Clorhidrato de aluminio y sales relacionadas	De 15 % al ≥ 25 %

Fuente: NTE INEN 2867 (26).

En caso de que el labial no cumpla con los parámetros de la Tabla 2.2, deberá realizarse pruebas microbiológicas que comprueben la calidad del producto, las cuales se muestran a continuación.

Tabla 2-4. Límites permisibles en pruebas microbiológicas en cosméticos.

Área de aplicación	Requisito	Límites de aceptabilidad
Cosméticos que entran en contacto con membranas mucosas y cosméticos susceptibles a contaminación biológica	Microorganismos mesófilos aerobios totales	1 x 10 ² UFC/g o mL
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1g ó mL
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1g ó mL
	<i>Escherichia coli</i>	1g ó mL

Fuente: NTE INEN 2867 (26).

2.2.6 Información técnica para la obtención de la NSO

A fin de ser aprobada la NSO, deberá cumplirse los requisitos que se detallan a continuación (27):

- Descripción de la fórmula cualitativa del producto a comercializar.
- Nomenclatura internacional o genérica de los ingredientes.
- Especificaciones organolépticas y fisicoquímicas del producto final.
- Especificaciones microbiológicas de acuerdo a la normativa vigente.
- Estudios técnico-experimentales que justifiquen las propiedades del producto cosmético terminado.
- Instrucciones de uso del cosmético.
- Material del envase primario y secundario.
- Descripción del sistema de lotes de producción.

2.2.7 Requisitos de etiquetado y comercialización

Según el Reglamento Técnico Andino para el etiquetado de productos cosméticos, se debe cumplir con los requisitos que se detallan a continuación (28):

- Nombre del cosmético.
- Denominación genérica que permita su identificación.
- Grupo cosmético.
- Marca comercial.
- Nombre o razón social del titular de la NSO.
- Nombre del país de origen.
- El contenido neto de volumen en las unidades correspondientes.
- Las precauciones particulares de empleo sobre sustancias o ingredientes y las restricciones o condiciones de uso.
- Número de lote.

- El código de la NSO con indicación del país de expedición.
- La lista de ingredientes en nomenclatura internacional o genérica International Nomenclature of Cosmetic Ingredients (INCI).
- Fecha de vencimiento o vida útil del producto.
- Instrucciones de uso (en casos necesarios).
- Condiciones de almacenamiento.
- Advertencias, precauciones y restricciones del producto (en casos necesarios).

Dichos requisitos determinan e informan de las características de un producto cosmético, para su adecuado uso y consumo, protegiendo además la salud y seguridad humana.

Así mismo, la Comisión de la Comunidad Andina establece que, los productos cosméticos solo serán comercializados si cumplen con los requisitos de etiquetado previamente expuestos.

CAPÍTULO III

3 METODOLOGÍA

3.1 Diseño de investigación y nivel

Enfoque: El enfoque de la investigación a realizarse es cualitativo y de tipo descriptivo.

Tipo de Investigación:

Por el ámbito: De campo

Por la técnica: Observacional

Por la temporalidad: Transversal actual

3.2 Población y muestra

Universo – Población: Conformado por labiales expendidos en tres locales distintos dentro del mercado 9 de Octubre en la ciudad de Cuenca.

Muestreo y muestra: Muestreo no probabilístico por conveniencia, la muestra a objeto de estudio estuvo conformada por cinco labiales de tres distintas marcas. Con una muestra total de quince labiales.

Criterios de selección:

- **Criterios de inclusión:** Labiales que según sus características físicas no presenta empaque sellado. Labiales que no cuentan con NSO.
- **Criterios de exclusión:** Se excluyeron del estudio labiales que cuenten con NSO.

3.3 Definición y clasificación de las variables

- ***C. albicans*: cualitativa discreto**

Definición: Hongo dimórfico perteneciente a la familia *Cryptococcaceae*.

Escala de medición: Ausencia-presencia.

- **Contenido neto del labial: cuantitativo continuo**

Definición: Cantidad del producto declarada en el rotulado del envase.

Escala de medición: Gramos.

- **Empaque: cualitativo nominal**

Definición: Conjunto de materiales que forman una envoltura y armazón.

Escala de medición: Abierto-cerrado.

- **Marca del cosmético: cualitativo nominal**

Definición: identificador comercial.

Escala de medición: Registro-sin registro.

3.4 Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos

Para el desarrollo experimental de este trabajo de investigación se empleó el “Método de Ensayo Para la Determinación de *Candida albicans* en cosméticos” detallado a continuación (29).

3.4.1 Técnicas e instrumentos:

3.4.1.1 Microscopia

El método es aplicable para determinar *Candida albicans* en cosméticos. Se utilizó un microscopio “ Olympus CH40” para observar las muestras incubadas de MLB (Modified Lethen Broth) con 1g de labial y 1mL de tween 80 en una placa en fresco.

3.4.1.2 Método

Las muestras son diluidas en tween 80, MLB y cultivadas en un medio selectivo para la posterior identificación de *Candida albicans* en labiales.

Ambiente de trabajo: Se debe trabajar en un ambiente espacioso, limpio y con iluminación en cabina superior a 100 cd (candela). El aire en el laboratorio debe estar bien ventilado, con la menor cantidad de polvo y con corriente de ser posible.

3.4.1.3 Equipos y materiales

- Cabina de seguridad biológica (BSC): clase 2 II o superior.
- Autoclave.
- Incubador: variación de temperatura dentro de $\pm 1.0^{\circ}\text{C}$.
- Balanza: con pesas, capacidad de 200 g sensibilidad de 0.1 g; o con pesas de 100 g de capacidad y sensibilidad de 1 g.
- Microscopio óptico
- Vortex.
- Potenciómetro
- Pipetas y micropipetas.
- Pipetas: estériles; punta de 1mL con escala de 0.01mL; 5 y 10mL con escala de 0.1mL.
- Puntas: 1000 uL.
- Perlas de vidrio: estériles, de 5 – 7mm diámetro.
- Cajas petri: estériles, de 90 x 15mm. La superficie de la placa debe ser plana y no poseer burbujas.
- Recipiente de dilución: bolsas asépticas, frascos o tubos de ensayos, con tapa rosca, con marcas de 100mL, 50mL y 10mL.
- Gasas, espátulas, tijeras y pinzas estériles o desechables.
- Aguja y asa de inoculación (3mm de diámetro): alambre de nicromo, platino-iridio, cromo o desechable.
- Portaobjetos y cubreobjetos: Adecuado para tinción y observación en el microscopio.

Reactivos Químicos

- Violeta de cristal.
- Bisulfato sódico (NaHSO_3).
- Cloranfenicol.
- Polisorbato 80.
- Dextrosa.

- Oxalato de amonio.
- Yoduro potásico.
- Yodo.
- Safranina y etanol al 95%.
- Infusión de grado microbiológico, a partir de harina de maíz, caldo letheen, peptona tripticasa, peptona tiotona, extracto de levadura, digestión péptica de tejido animal, digestión pancreática de caseína, agar y suero fetal de ternera o caballo.
- Etanol al 70%: agregar 560mL de etanol al 95% en 200mL de agua destilada y mezclar.
- Tinción de Gram

Violeta de cristal (colorante primario)

Solución A: disolver 2g de violeta de cristal en 20mL de etanol al 95%.

Solución B: disolver 0.8 gramos de oxalato de amonio en 80mL de agua destilada. Mezclar la solución A con la solución B, filtrar tras 24 horas de reposo y recoger el filtrado como colorante primario.

Solución de yodo (solución mordiente)

Disolver 2g de yoduro de potasio y 1g de yodo en un mortero. Después de moler de 5 a 10 segundos, agregar 1mL, 5mL y 10mL de agua destilada mientras se continúa moliendo secuencialmente hasta que el yoduro potásico y el yodo estén completamente disueltos. Verter esta solución en un envase marrón o ámbar, lavar el mortero con la cantidad necesaria de agua destilada y posterior a esto reponerla en el frasco; finalmente añadir 300mL de agua destilada.

Contratinción de Hucker.

Disolver 2.5g de safranina en 100mL de etanol al 95% para la solución stock. Cuando se vaya a utilizar, tomar 10mL de la solución madre y agregar 90mL como solución de contratinción.

Nota: La solución de tinción de Gram puede fallar por una exposición prolongada, es por eso que si se compra el producto terminado, se debe poner atención a su vida útil; si usted mismo lo prepara, comprobar el efecto de la tinción.

Medios de cultivo

- Caldo Lethen modificado (MLB), cuyos componentes y sus respectivas cantidades se detallan en la siguiente tabla.

Tabla 3-1. Ingredientes del MLB.

Caldo Lethen	25.7g
Peptona Trypticasa	5g
Peptona tiotona	10g
Extracto de levadura	2g
NaHSO ₃	0,1g
Agua destilada	1000mL

Fuente: FDA (22)

Disolver los ingredientes por calentamiento, dispensar apropiadamente en recipientes estériles a 121°C por 15 minutos. pH final 7.2 ± 0.2.

- Agar Sabouraud dextrose cloranfenicol, cuyos componentes y sus respectivas cantidades se detallan en la siguiente tabla.

Tabla 3-2. Ingredientes del Agar Sabouraud dextrose cloranfenicol.

Dextrosa	40g
Péptido de tejido animal	5g
Digerido pancreático de caseína	5g
Cloranfenicol	0,05g
Agar	15g
Agua destilada	1000mL

Fuente: FDA (22)

Disolver los ingredientes por calentamiento, distribuir apropiadamente en recipientes estériles a 121°C por 15 minutos. pH final, 5.6 ± 0.2.

- Agar harina de maíz 1% con polysorbato 80, cuyos compuestos y sus respectivas se detallan en la siguiente tabla.

Tabla 3-3. Ingredientes del Agar harina de maíz 1% con polysorbato 80.

Infusión de harina de maíz	50g
Agar	15g
Polisorbato 80	10g
Agua destilada	1000mL

Fuente: FDA (22)

Disolver los ingredientes por calentamiento, distribuir apropiadamente en recipientes estériles a 121°C por 15 minutos. pH final, 6.0 ± 0.2.

3.5 Preparación preliminar de la muestra

3.5.1 Productos a base de crema y aceite

pesar asépticamente 1g de muestra en un tubo de ensayo estéril que contenga 1mL de tween 80 más 5-7 microesferas estériles. Mezclar en el vortex. Ajustar el volumen total a 10mL, con 8mL de MLB estéril para la dilución 10⁻¹.

3.5.2 Aislamiento y cultivo

Incubar la dilución 10⁻¹ de la sección 2.3.1 a 32.5°C ± 2.5 °C durante al menos 20 horas. Inocular de la dilución 10⁻¹ en la superficie del agar sabouraud dextrosa cloranfenicol con ayuda de un asa, e incubar a 32.5 °C ± 2.5 °C por 24 – 48 horas. Aislar las colonias beige cremosas y convexas para las pruebas bioquímicas.

3.5.3 Pruebas bioquímicas

Tinción de Gram y examen microscópico

Tomar la cantidad adecuada de colonias y mezclar con solución salina estéril, gotear sobre un portaobjetos, para hacer un frotis. Secar el frotis al aire.

Tinción primaria

Teñir el frotis fijado con solución de violeta de cristal durante 1 minuto, seguido del lavado (el tiempo de lavado no debe superar los 5 segundos).

Tinción con solución mordiente

Aplicar la solución de yodo por 1 minuto y luego enjuagar con agua destilada.

Decoloración

Lavar con etanol al 95% hasta que desaparezca la coloración azul-violeta y lavar con agua. Este paso lleva muy poco tiempo, dependiendo del grosor del frotis.

Contrateñir

La solución contratinción se aplica por 30 segundos y se lava con agua.

Secado al aire

Se lleva a cabo una examinación microscópica de *Candida albicans*, misma que revelará un color violeta, células ovoides cortas o alargadas.

3.6 Procedimientos estadísticos y análisis de datos

Para el presente trabajo de investigación no se aplican procedimientos estadísticos y análisis de datos, dado que la investigación es cualitativa y sus resultados únicamente se miden en ausencia y presencia de *Candida albicans*.

3.7 Aspectos éticos

Para el presente trabajo de investigación no se consideran aspectos éticos.

CAPÍTULO IV

4 RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 RESULTADOS

En este estudio realizado en la ciudad de Cuenca, para determinación de *Candida albicans* en labiales, se tomó cinco labiales de tres marcas distintas, expandidas dentro del mercado 9 de Octubre, mismos que se muestran en la Figura 4-1. Al momento de realizar la compra de dichos productos cosméticos, mediante inspección visual se determinó que los labiales expuestos para la venta directa al público, no contenían etiquetas ni un correcto empaque que impida la apertura del producto previo a su venta. Además, no se encontraban en ambientes adecuados para su conservación (estaban expuestos directamente al sol y destapados).

Una vez realizada la compra de los distintos labiales, se pudo observar la presencia de vellosidades dentro del empaque, deterioro del producto, entre otros.

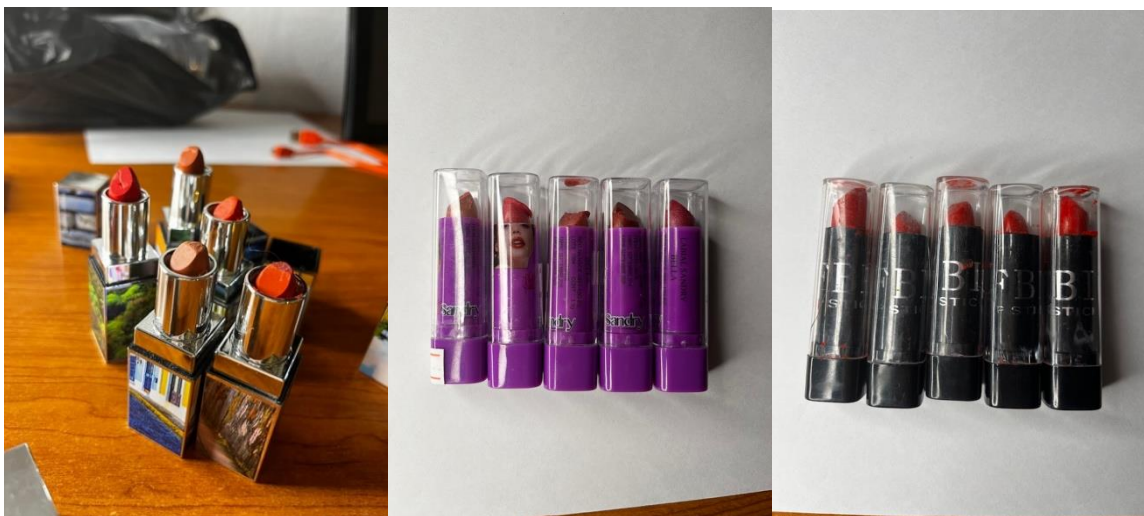


Figura 4-1. Labiales empleados para el desarrollo de la investigación. Fuente: Tomados insitu.

Siguiendo la metodología descrita en el acápite anterior, previa preparación de la muestra de estudio, se esterilizaron los reactivos y materiales a emplearse en el desarrollo experimental.

En la Tabla 4-1 se muestra el resultado del control de esterilidad de tween 80 y tubos de ensayo tomados para la elaboración de la muestra previa a su cultivo; mismos que resultaron negativos, demostrando una correcta manipulación durante la elaboración de las pruebas para la determinación de *C albicans*.

Tabla 4-1. Control de la esterilidad de los reactivos previo al análisis de la muestra.

	TW 1	TW 2	TW 3	TW 4	TW 5	TW 6	TW 7	TW 8	TW 9	TW 10	TW 11	TW 12	TW 13	TW 14	TW 15
Cr	A														
Cr		A													
Cr			A												
Cr				A											
Cr					A										
Cr						A									
Cr							A								
Cr								A							
Cr									A						
Cr										A					
Cr											A				
Cr												A			
Cr													A		
Cr														A	
Cr															A
TW: Reactivo tween 80 Cr: Crecimiento de microorganismos A: Ausencia P: Presencia															

Fuente: Elaboración propia.

En tanto que, en la Tabla 4-2 se muestra el control de esterilidad de las distintas cajas petri con agar sabouraud dextrosa cloranfenicol, posterior a su elaboración e incubación por 24 horas a 37°C.

Tabla 4-2. Control de esterilidad del agar sabouraud dextrosa cloranfenicol.

	Ag 1	Ag 2	Ag 3	Ag 4	Ag 5	Ag 6	Ag 7	Ag 8	Ag 9	Ag 10	Ag 11	Ag 12	Ag 13	Ag 14	Ag 15
Co	A														
Co		A													
Co			A												
Co				A											
Co					A										
Co						A									
Co							A								
Co								A							
Co									A						
Co										A					
Co											A				
Co												A			
Co													A		
Co														A	
Co															A

Ag: Caja petri con agar
 Co: Crecimiento de colonias
 A: Ausencia
 P: Presencia

Fuente: Elaboración propia

Durante la determinación de *Candida albicans* en labiales en agar sabouraud dextrosa cloranfenicol (agar específico para levaduras); se inoculó la dilución 10^{-1} de Modified Letheen Broth (MLB) con tween 80 y la muestra y posteriormente se incubó por 48 horas en agar sabouraud dextrosa cloranfenicol (agar específico para levaduras) a 32.5°C . Los resultados se muestran en la Tabla 4-3.

Tabla 4-3. Análisis del cultivo de labiales en agar sabouraud dextrosa cloranfenicol.

	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11	L12	L13	L14	L15
Ag1	A														
Ag 2		A													
Ag 3			A												
Ag 4				A											
Ag 5					A										
Ag 6						A									
Ag 7							A								
Ag 8								A							
Ag 9									A						
Ag 10										A					
Ag 11											A				
Ag 12												A			
Ag 13													A		
Ag 14														A	
Ag 15															A

Ag: Caja petri con agar sabouraud dextrosa cloranfenicol
 L: Labial No
 A: Ausencia
 P: Presencia

Fuente: Elaboración propia

Como se puede observar, no se obtuvo crecimiento de colonias en las muestras examinadas de los labiales, a pesar de las inadecuadas condiciones que presentaba el producto.

4.2 DISCUSIÓN

Tras el análisis de los resultados, se determinó la ausencia de *Candida albicans* en la muestra de labiales expendidos en el Mercado 9 de Octubre en la ciudad de Cuenca; por lo que se asume que, dicha ausencia se debe a la presencia de parabenos dentro de la formulación de los labiales. El efecto antifúngico de los parabenos es muy eficaz al momento de impedir el alojamiento y crecimiento de hongos y levaduras en cosméticos; ya que la FDA los posiciona como segundo ingrediente en la formulación de cosméticos.

Por lo que, se puede deducir que los labiales expedidos en el mercado 9 de Octubre, cumplen con las características de formulación y no presentan contaminación por *Candida albicans*, pese a la mala manipulación y ausencia de NSO. Sin embargo, mediante la observación microscópica de una placa en fresco de las muestras de labiales analizadas se observó la presencia de cocos y bacilos, lo cual evidencia el riesgo de contaminación de dichos productos cosméticos por otros microorganismos, mismos que deben ser analizados mediante los ensayos respectivos. Todo esto con el fin de advertir e informar al usuario sobre los posibles riesgos asociados al consumo de estos productos comercializados de manera informal.

Debido a la ausencia de estudios realizados acerca de *Candida albicans* en labiales, se ha dificultado la contrastación y comparación de los resultados obtenidos con otras bibliografías tanto a nivel nacional como internacional; sirviendo este trabajo de investigación como un primer insumo en la temática, así como un aporte para el posible establecimiento de normativas nacionales para la comercialización y establecimiento de estándares de calidad en los labiales expendidos en el mercado informal.

CAPÍTULO V

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Mediante un estudio experimental dentro del laboratorio de microbiología de la Universidad Católica de Cuenca, se determinó que no existió la presencia de *Candida albicans* en labiales expedidos en distintos comercios localizados en el mercado 9 de Octubre de la ciudad de Cuenca.

Para el desarrollo de este estudio experimental se siguió la metodología establecida por la FDA en el “Método de Ensayo Para la Determinación de *Candida albicans* en cosméticos” por el cual se determinó la ausencia de unidades formadoras de colonias de *Candida albicans* en la muestra de labiales obtenida del mercado 9 de Octubre de la ciudad de Cuenca.

Se determinó el nulo crecimiento de *Candida albicans* en agar sabouraud dextrosa cloranfenicol, lo que evidenció la posible presencia de parabenos dentro de la formulación de los labiales.

Dentro de las características físicas de los labiales se estableció que no poseían especificaciones de etiquetado, empaque sellado, contenido neto de labia ni ausencia de materias extrañas, que hayan garantizado una completa inocuidad del mismo.

5.2 RECOMENDACIONES

- Con el fin de corroborar los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, se recomienda analizar un ampliado número de muestras de labiales expedidos en otros mercados y locales informales de la ciudad de Cuenca, además de determinar la presencia de otros tipos de microorganismos, no únicamente *Candida albicans*, que podrían estar presentes en los labiales dadas sus malas condiciones y falta de información al momento de ser comercializados.

- Previa adquisición de un producto cosmético, todo usuario consumidor debería fijarse en la existencia del registro sanitario y NSO en estos productos, de manera que se prevengan posibles alergias, irritaciones, infecciones a la piel o afecciones a su salud en general.
- Realizar un estudio científico de los distintos conservantes utilizados dentro de la industria cosmética y su acción antimicrobiana contra los distintos microorganismos, tomando en cuenta cosméticos con empaques abiertos.
- Investigar ensayos de control de calidad de productos cosméticos, estandarizados en normativas nacionales o internacionales, que puedan ser complementarios al caso de estudio.
- Desarrollar una normativa técnica nacional que regule la comercialización de productos cosméticos y la adquisición de NSO, mediante controles de calidad microbiológicos y estudios físico-químicos.

6 BIBLIOGRAFÍA

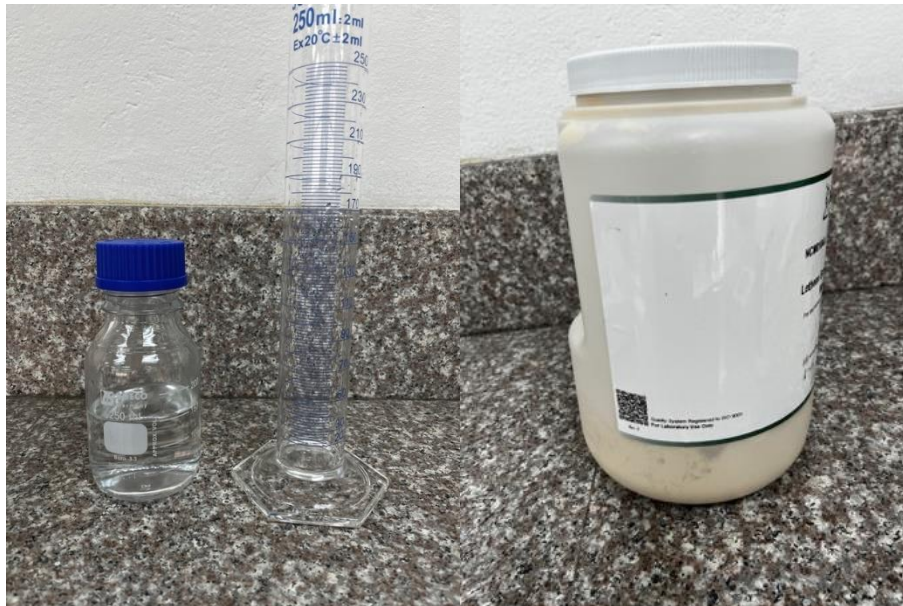
1. Galindo-Ramirez SM, Vargas J, Ortiz MA. Estudio Morfológico de los Labios en una Población Mestiza Colombiana. *Int J Morphol.* junio de 2012;30(2):422-4.
2. BBC. Fake cosmetics found to contain «toxic» chemicals. *BBC News* [Internet]. 27 de agosto de 2018 [citado 8 de agosto de 2023]; Disponible en: <https://www.bbc.com/news/uk-45313747>
3. Urrutia Andrea. *Lapiz labial: identidad, presentación y experiencias de la feminidad.* [Perú]: PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ; 2013.
4. Almagro C, Joshett S, Llerena M, Patricio E. Análisis de las actuales regulaciones sanitarias acerca del control de calidad de labiales réplica AAA en el Ecuador.
5. Vázquez S. EFECTOS FARMACOINDUCIDOS EN LA CAVIDAD BUCAL. 1998;
6. FDA. FDA. FDA; 2022 [citado 18 de julio de 2023]. Shelf Life and Expiration Dating of Cosmetics. Disponible en: <https://www.fda.gov/cosmetics/cosmetics-labeling/shelf-life-and-expiration-dating-cosmetics>
7. García López E, Blanco Ruiz AO, Rodríguez García LO, Reyes Fundora D, Sotres Vázquez J. Queilitis: Revisión bibliográfica. *Rev Cuba Estomatol.* agosto de 2004;41(2):0-0.
8. Pardi G, Cardozo E. Algunas consideraciones sobre *Candida Albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. *Acta Odontológica Venez.* enero de 2002;40(1):9-17.
9. Pérez Pilar, Jodas Farrés Gemma, Jiménez Silva Lucía, Dueñas Viñuela Cristina, Huidobro Pahissa Ana, Pérez Gómez Mercedes, et al. *Cosméticos microbiológicamente seguros.*
10. Drummond R. *Candida albicans* | British Society for Immunology [Internet]. [citado 18 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/pathogens-disease/candida-albicans>
11. Mantilla-Florez YF, Tuta-Quintero E, Brito-Rodriguez AJ, Clavijo-Moreno LC. *Candidiasis y Candida Albicans.* *Bol Malariol Salud Ambient.* 2021;61(3):391-400.
12. Palacios CP, Gómez LM, Cardona N. *Candidiasis mucocutánea: espectro clínico.* *Rev Asoc Colomb Dermatol Cir Dermatológica.* 2011;19(3):239-44.
13. Adriana B. *Actis. Sistema estomatognático.* 1.^a ed. Editorial Médica Panamericana; 2014. 372 p. (1).
14. Marín D, del Pozo A. *Pigmentación de la piel (I). Melaninas: conceptos generales e implicaciones cosméticas.* *Offarm.* 1 de enero de 2005;24(1):116-8.
15. *Gaceta 3450.pdf* [Internet]. [citado 18 de julio de 2023]. Disponible en:

- <https://www.comunidadandina.org/DocOficialesFiles/Gacetas/Gaceta%203450.pdf>
16. Reardor J, Troxier S. North Carolina Department of Agriculture and Consumer Services Food and Drug Protection Division. p. 3.
 17. BBC. Cómo el lápiz labial se convirtió en un negocio multimillonario. BBC News Mundo [Internet]. [citado 7 de agosto de 2023]; Disponible en: <https://www.bbc.com/mundo/noticias-44392258>
 18. Mawazi SM, Azreen Redzal NAB, Othman N, Alolayan SO. Lipsticks History, Formulations, and Production: A Narrative Review. *Cosmetics*. 18 de febrero de 2022;9(1):25.
 19. Azcona L. Cosmética labial. *Farm Prof*. 1 de febrero de 2008;22(2):54-7.
 20. Lemmel J. Conservantes. Tipos y sistemas de conservación. *Offarm*. 1 de enero de 2008;27(1):58-64.
 21. FDA [Internet]. FDA; 2022 [citado 18 de julio de 2023]. Parabens in Cosmetics. Disponible en: <https://www.fda.gov/cosmetics/cosmetic-ingredients/parabens-cosmetics>
 22. FDA [Internet]. FDA; 2022 [citado 18 de julio de 2023]. Color Additives and Cosmetics: Fact Sheet. Disponible en: <https://www.fda.gov/industry/color-additives-specific-products/color-additives-and-cosmetics-fact-sheet>
 23. Colorantes y cosméticos.
 24. Valenzuela J. Development of a lipstick range and the process for their manufacture. [Internet] [Documental]. [España]: Universitat de Barcelona; 2020. Disponible en: <https://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/185787/1/VALENZUELA%20AGUILERA%2c%20JAVIERA%202019-20%20P.pdf>
 25. Criterios de evaluación para la categorización del riesgo de productos cosméticos para sistemas de control y vigilancia sanitaria. [Internet]. [citado 18 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2016/08/IE-C.2.2-COS-01-INSTRUCTIVO-EXTERNO-CRITERIOS-DE-EVALUACION-PARA-LA-CATEGORIZACION-DEL-RIESGO-DE-PROD-COSMETICOS-PARA-SISTEMAS-DE-CONTROL-Y-VIGILANCIA-SANITARIA.pdf>
 26. Luz Mariana Rivera, Patricia Jarrin, Wilma Gallegos, Emilia Loayza, Katia Salas, Daniel Díaz, et al. NTE INEN 2867 [Internet]. NTE INEN 2687 2015 p. 4. Disponible en: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas23/nte_inen_2867.pdf
 27. DECISION-833-Armonización-de-Legislaciones-en-materia-de-productos-cosméticos.pdf [Internet]. [citado 20 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2019/04/DECISION-833-Armonizaci%C3%B3n-de-Legislaciones-en-materia-de-productos-cosm%C3%A9ticos.pdf>

28. Resolución_2310_Reglamento_etiquetado_cosmeticos.pdf [Internet]. [citado 20 de julio de 2023]. Disponible en: https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2023/01/Resolucion_2310_Reglamento_etiquetado_cosmeticos.pdf
29. Method of Test for Candida albicans in Cosmetics.

7 ANEXOS

Anexo 1. Preparación del caldo de enriquecimiento MLB.



Fuente: Laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca

Autor: Michael Arias Iñiguez

Anexo 2. Administración de 1mL de tween 80 en cada uno de los tubos de ensayo tapa rosca.



Fuente: Laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca

Autor: Michael Arias Iñiguez

Anexo 3. Esterilización del tween 80 y MLB.



Fuente: Laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca

Autor: Michael Arias Iñiguez

Anexo 4. Corte y pesado de 1g de labial con cuchillas estériles, sobre portaobjetos estériles.



Fuente: Laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca

Autor: Michael Arias Iñiguez

Anexo 5. Elaboración del tubo de control de tween80 y los tubos de muestra que posee 1 g de labial, 1mL de tween 80 y 8 ml de MLB.



Fuente: Laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca

Autor: Michael Arias Iñiguez

Anexo 6. Incubación de los tubos con la muestra de estudio a 32.5 °C por 22 horas.



Fuente: Laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca

Autor: Michael Arias Iñiguez

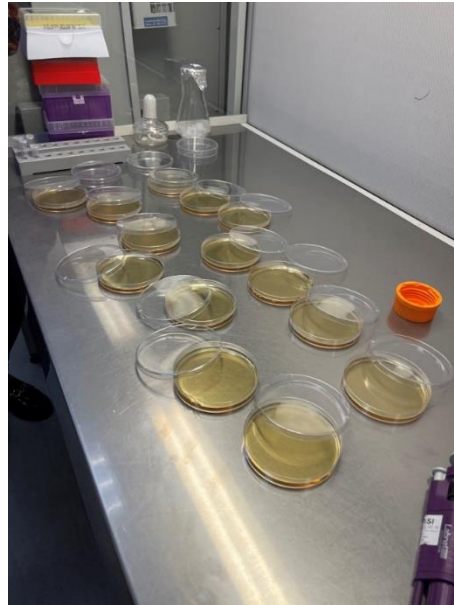
Anexo 7. Esterilización del agar sabouraud dextrosa cloranfenicol.



Fuente: Laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca

Autor: Michael Arias Iñiguez

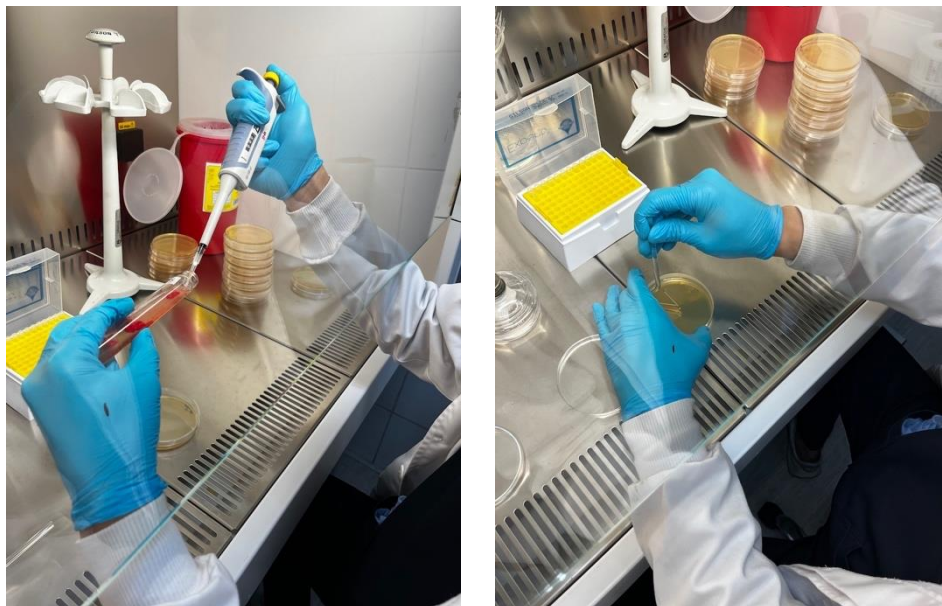
Anexo 8. Administración del agar sabouraud dextrosa cloranfenicol en cajas petri.



Fuente: Laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca

Autor: Michael Arias Iñiguez

Anexo 9. Cultivo de la muestra en agar sabouraud dextrosa cloranfenicol.



Fuente: Laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca

Autor: Michael Arias Iñiguez

Anexo 10. Incubación de los medios de cultivo.



Fuente: Laboratorios de la Universidad Católica de Cuenca

Autor: Michael Arias Iñiguez

Anexo 11. Método establecido por la FDA para la determinación de *Candida albicans* en cosméticos (29).

1. Scope

The method is applicable to detect *Candida albicans* in cosmetics.

2. Method

Samples are diluted. Culture the diluted test solution with selective medium, then identify *Candida albicans* in cosmetics.

2.1. Work environment: The working platform needs to be spacious, clean and well lit with illumination of cabinet over 100 cd. The air in the closed room is well-ventilated, with as little dust and flowing air as possible. Colonies must not exceed 15 CFU/dish for every 15 minutes.

2.2. Equipment and materials

2.2.1. Biological safety cabinet (BSC): class II or above.

2.2.2. Autoclave.

2.2.3. Incubator: temperature variation within $\pm 1.0^{\circ}\text{C}$.

2.2.4. Balance: with weights, 2000 g capacity, sensitivity of 0.1 g; or with weights, 100 g capacity, sensitivity of 1 mg.

2.2.5. Optical microscope

2.2.6. Vortex mixer.

2.2.7. pH meter.

2.2.8. Pipette aid or micropipette.

2.2.9. Pipette: sterile; 1 mL tip with scale of 0.01 mL; 5 and 10 mL with scale of 0.1 mL.

2.2.10. Tips: 1000 μL .

2.2.11. Glass beads: sterile, 5 - 7 mm diameter.

2.2.12. Petri dishes: sterile, 90 x 15 mm. surface of dish should be flat and contain no bubble or scratches.

2.2.13. Dilution container: aseptic bags, jars or test tubes, screw-cap, 100 mL, 50 mL and 10 mL markers.

2.2.14. Gauze pads, spatulas, scissors and forceps: sterile or disposable.

2.2.15. Inoculation needle and loop (3 mm diameter): nichrome, platinum-iridium or chromium wire, or disposable.

2.2.16. Slide and cover glass: Suitable for stain and microscopic examination.

2.2.17. Chemicals

Reagent grade of crystal violet, sodium bisulfite (NaHSO_3), chloramphenicol, polysorbate 80, dextrose, ammonium oxalate, potassium iodide, iodine, safranin O and 95% Ethanol.

Microbiological grade of Infusion from corn meal, letheen broth, trypticase peptone, thiotone peptone, yeast extract, peptic digest of animal tissue, pancreatic digest of casein, agar and foetal calf or horse serum.

2.2.18. Reagents

2.2.18.1. 70% ethanol solution

Add 560 mL of 95% ethanol into 200 mL of distilled water and mix well.

2.2.18.2. Gram stain solution

2.2.18.2.1. Hucker's crystal violet solution (primary dye)

Solution A: dissolve 2 g of crystal violet in 20 mL of 95% ethanol.

Solution B: dissolve 0.8 g of ammonium oxalate in 80 mL of distilled water. Mix solution A and solution B, filter after standing for 24 hours and collect the filtrate as the primary dye.

2.2.18.2.2. Gram iodine solution (mordant)

Dissolve 2 g of potassium iodide and 1 g of iodine in a mortar. After grinding for 5 to 10 seconds, continue to grind sequentially with addition of 1 mL, 5 mL and 10 mL of distilled water, until the potassium iodide and iodine are completely dissolved. Pour this solution into a brown bottle, and wash the mortar with an appropriate amount of distilled water, and then replenish the incorporated solution, and finally add distilled water to 300 mL.

2.2.18.2.3. Hucker's counterstain

Dissolve 2.5 g of safranin O in 100 mL of 95% ethanol for mordant stock solution. When using, take 10 mL of stock solution and add 90 mL of distilled water as the counterstain solution.

Note: Gram stain solution may fail due to prolonged exposure, so if you purchase the finished product, pay attention to its shelf life. If you prepare yourself, check the dyeing effect.

2.2.19. Media

2.2.19.1 Modified Letheen broth (MLB)

Letheen broth.....	257 g
Trypticase peptone.....	5 g
Thiotone peptone.....	10 g
Yeast extract.....	2 g
NaHSO ₃	0.1 g
Distilled water.....	1000 mL

Dissolve the ingredients by heating, dispense in appropriate containers and sterilize at 121°C for 15 minutes. Final pH, 7.2 ± 0.2.

2.2.19.2. Sabouraud dextrose chloramphenicol agar

Dextrose.....	40.0 g
Peptic digest of animal tissue.....	5.0 g
Pancreatic digest of casein.....	5.0 g
Chloramphenicol.....	0.050 g
Agar.....	15.0 g
Distilled water.....	1000 mL

Dissolve the ingredients by heating, dispense in appropriate containers and sterilize at 121°C for 15 minutes. Final pH, 5.6 ± 0.2.

2.2.19.3. Corn meal agar with 1% polysorbate 80

Infusion from corn meal.....	50.0 g
Agar.....	15.0 g
polysorbate 80.....	10.0 g
Distilled water.....	1000 mL

Dissolve the ingredients by heating, dispense in appropriate containers and sterilize at 121°C for 15 minutes. Final pH, 6.0 ± 0.2.

2.3 Preliminary sample preparation

2.3.1. Liquids

Decimally dilute 1 mL of liquid directly into 9 mL of MLB in a sterile test tube for the 10⁻¹ dilution.

2.3.2. Solids and powders

Aseptically weigh 1 g of sample into a sterile test tube containing 1 mL of sterile Tween 80. Disperse product in Tween 80 with a sterile spatula. Add 8 mL of sterile MLB and mix thoroughly for the 10⁻¹ dilution.

2.3.3. Cream and oil-based products

Aseptically weigh 1 g of sample into a sterile test tube containing 1 mL of sterile Tween 80 plus five to seven sterile glass beads. Mix total contents with Vortex mixer. Adjust total volume to 10 mL with 8 mL of sterile MLB for the 10^{-1} dilution.

2.3.4. Aerosols

Disinfect the spray nozzle with gauze moistened with 70% ethanol solution. Expel some product to flush out nozzle; then spray appropriate amount into dilution bottle. Aseptically weigh 1 g of sample into a sterile test tube. Add 9 mL of sterile MLB and mix thoroughly for the 10^{-1} dilution.

2.3.5. Anhydrous material

Refer to sections 2.3.2. and 2.3.3.

2.4. Isolation and culture

Incubate the 10^{-1} dilution from Section 2.3 at $32.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at least 20 hours. Inoculate a loop of 10^{-1} dilutions with a sterile loop on to the surface of Sabouraud dextrose chloramphenicol agar, and incubate at $32.5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 24 - 48 hours. Pick out isolated colonies with white to beige, creamy and convex for biochemical tests.

2.5. Biochemical tests

2.5.1. Gram Stain and Microscopic examination

2.5.1.1. Hook the appropriate amount of bacteria and mix with sterile saline solution dripped on a slide to make a thin smear. Air dry the smear and never roasts by fire.

2.5.1.2. Primary Staining

Dye the fixed smear with Hucker's crystal violet solution for 1 minute, followed by washing, the washing time should not exceed 5 seconds.

2.5.1.3. Mordant Staining

Apply Gram iodine solution for 1 minute and then washed with water.

2.5.1.4. Decoloring

Wash with 95% ethanol until no more blue-violet fading, then wash with water. This step takes a very short time, only a few seconds, depending on the thickness of the smear.

2.5.1.5. Counterstaining

Counterstaine with Hucker's counterstain solution for 30 seconds and wash with water.

2.5.1.6. Air-dry

2.5.1.7. Microscopic examination

The microscopic observation of *Candida albicans* shall reveal a violet color, short ovoid or elongated cells, sometimes with budding cells.

2.5.2 Germ tube test

2.5.2.1. Place 0.5 - 1.0 mL of serum (foetal calf or horse serum) in a small test tube, then emulsify a small portion of yeast colony to be tested in the serum.

2.5.2.2. Incubate at 37 ± 1 °C for 1.5 to 2 hours in a water bath, or at 37 ± 2 °C for 3 hours in an incubator.

2.5.2.3. Place a drop of serum on a slide, put on a cover glass and examine microscopically for germ tube production. Germ tubes appear as cylindrical filaments originating from the blastospore, without any constriction at the point of origin and without obvious swelling along the length of the filament.

2.5.2.4. If germ tubes were not formed, the colonies shall be examined for production of hyphae, pseudohyphae and chlamydospores in accordance with 2.5.3

2.5.3. Culture on corn meal agar with 1 % polysorbate 80.

2.5.3.1. Remove a small portion of the yeast colony with an inoculating wire and streakinoculate the surface of the medium across the centre of the plate. Place a sterile cover glass over the inoculum streak.

2.5.3.2. Incubate at 32.5 ± 2.5 °C for up to 3 days.

2.5.3.3. After 24 hours incubation, remove the dish lid and examine the growth through the cover glass under the microscope with magnification of 100x to 400x. *Candida albicans* produces large, highly refractile, thick-walled chlamydospore which may be seen terminally or on short lateral branches.

2.6. Interpretation

If the biochemical test results of the colonies confirm the presence of this species, express the result as presence of *Candida albicans*.

2.7. It is allowed to use validated commercial medium, biochemical test kits or identification systems.

Anexo 12

 Universidad Católica de Cuenca	AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	CÓDIGO: F – DB – 30 VERSION: 01 FECHA: 2021-04-15 Página 45 de 53
--	--	--

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Michael Alexander Arias Iñiguez portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **1104871627**. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del proyecto de titulación “**Determinación de *Candida albicans* en labiales**” de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste proyecto de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 16 de agosto de 2023



F:

Michael Alexander Arias Iñiguez

C.I. 1104871627