



UNAP



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ACEITE DE BOA AMARILLA DE USO
ETNOMEDICINAL QUE SE VENDE EN PASAJE PAQUITO, BELÉN – LORETO
2019”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

MARCO ANTONIO FERREYRA ARICARA

ASESORA:

Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.

**IQUITOS, PERÚ
2021**

ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNAP

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Facultad de Farmacia y Bioquímica

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°074-PCGT-FFyB-UNAP-2021/OFICIO N°493-DINV-UNAP-2021

En la ciudad de Iquitos, Distrito de Iquitos, Departamento de Loreto, por vía Zoom de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, a los 28 días del mes de diciembre de 2021, a horas 19:00, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL ACEITE DE BOA AMARILLA DE USO ETNOMEDICINAL QUE SE VENDE EN PASAJE PAQUITO, BELÉN-LORETO 2019", aprobado con Resolución Decanal N°362-2019-FFyB-UNAP, presentada por el bachiller: MARCO ANTONIO FERREYRA ARICARA, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°212-2021-FFyB-UNAP, está integrada por:

- | | |
|---|------------|
| - Q.F. LENIN FERNÁNDEZ ARELLANO, Mtro. | Presidente |
| - Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mtra. | Miembro |
| - Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG. | Miembro |

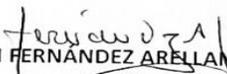
Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: acordeamente

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública de la tesis ha sido aprobada con la calificación bueno

Estando el bachiller apto para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Siendo las 8:30 P.M. se dio por terminado el acto académico de sustentación

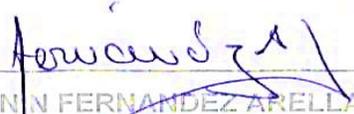

Q.F. LENIN FERNÁNDEZ ARELLANO, Mtro.
Presidente


Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mtra.
Miembro


Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG.
Miembro


Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.
Asesora

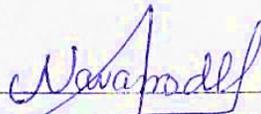
JURADO Y ASESORA



Q.F. LENIN FERNANDEZ ARELLANO, Mtro.

CQFP N° 14332

Presidente



Q.F. IVONNE NAVARRO DEL AGUILA, Mtra.

CQFP N° 11601

Miembro



Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG

CQFP N° 12492

Miembro



Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.

CQFP N° 03468

Asesora

DEDICATORIA

A mis padres **Carlos** y **Ana** que con tanto esfuerzo me ayudaron a hacerme profesional, su entrega, afecto y trabajo son invaluableles. Gracias porque en su sencillez son un gran ejemplo a seguir.

A mi compañera de vida **Mery** es mi aliento mi inspiración y un gran soporte en mi vida; para bien de nuestros hijos a quienes queremos dejar como legado un buen ejemplo.

A mi queridos hijos **Luana** y **Bastian**, quienes día a día me motivan a seguir adelante, son mi alegría, mis pequeños maestros y amigos

Marco Antonio Ferreyra Aricara

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Frida Sosa quien con sus aportes me ha permitido alcanzar uno de mis más anhelados logros, espero seguir desarrollándome compitiendo conmigo mismo como ella me enseñó.

Va mi gratitud a todos los docentes de la facultad de Farmacia y Bioquímica, fueron un comienzo del gran camino que emprendí, espero dejar bien en alto a tan noble profesión en retribución a sus enseñanzas, mis apreciados maestros.

A mis compañeros de carrera, va quedando atrás una serie de recuerdos gratos y otros menos gratos, cada vez hay menos tiempo para la chacota; pero reencontrarme con todos ellos me dicen que el tiempo es corto y la carrera que empezamos no termina.

ÍNDICE

PORTADA	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN	ii
JURADO Y ASESORA	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE	vi
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
2.2. Bases teóricas	5
2.2.1. Boa amarilla “<i>Corallus hortulanus</i>”.	5
2.2.2. Estabilidad de productos de uso terapéutico o cosmético	6
2.2.3. Microorganismos examinados en formas farmacéuticas y cosméticas de uso dérmico	7
2.2.4. Prueba de estabilidad microbiológica que se aplica a productos no estériles	9
2.3. Definición de términos operacionales	13
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES	14
3.1. HIPÓTESIS	14
3.2. DEFINICIONES OPERACIONALES DE LAS VARIABLES	14
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	15
3.1. DISEÑO METODOLÓGICO	15

3.2. DISEÑO MUESTRAL	15
3.3. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	15
3.4. PLAN DE ANALISIS E INTERPRETACIÓN	19
3.5. CONSIDERACIONES ÉTICAS	19
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	20
4.1. Recuento total de microorganismos presentes en las muestras de boa	20
4.2. Análisis de microorganismos específicos	21
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	24
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	27
CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES	28
CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Indicadores microbiológicos para expresar los resultados deseables en las muestras.	16
Tabla 2. Características morfológicas de las colonias de bacterias específicas en el medio de aislamiento.	16
Tabla 3. Resultados obtenidos en el análisis de aerobios mesófilos totales en las cinco muestras de aceite de boa, adquirida en el mercado herbolario “Pasaje Paquito” del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto, según la lectura de los tubos con ayuda de la tabla del anexo 1.	20
Tabla 4. Resultados obtenidos en el análisis de mohos de las cinco muestras de aceite de boa adquirida en el mercado herbolario “Pasaje Paquito” del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto.	21
Tabla 5. Resultados obtenidos en el análisis de Salmonella sp. de las cinco muestras de aceite de boa adquirida en el mercado herbolario “Pasaje Paquito” del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto.	22
Tabla 6. Resultados obtenidos en el análisis de E. coli de las cinco muestras de aceite de boa adquirida en el mercado herbolario “Pasaje Paquito” del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto.	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Recuento Total de Aerobios Mesófilos (NMP).	17
Figura 2. Prueba para identificar microorganismos específicos.	18

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Valores del número más probable de microorganismos. ¡Error! Marcador no definido.	
--	--

RESUMEN

En el presente trabajo se determinó la calidad microbiológica del aceite de *Corallus hortulanus* (boa amarilla), de uso etnoterapéutico en Iquitos. El estudio fue de tipo descriptivo, no experimental, transversal y los análisis de calidad se basaron en la metodología descrita en la United States Pharmacopeial 40 (USP 40); se aplicó la prueba 61 que permitió el recuento microbiano y la prueba 62 que identificó a microorganismos específicos; se tuvo cinco muestras procedentes de los puestos comerciales de Pasaje Paquito seleccionadas por el método aleatorio simple. Los resultados mostraron que dos muestras superaban el límite permitido (>1100) de microorganismos mesófilos, por el método del número más probable (NMP) y en las cuales se detectó presencia de *E. coli* y *Salmonella spp.* Además, cuatro de las muestras presentaron colonias de mohos, pero que no superaban el límite máximo permitido de 2×10^3 ufc/mL de muestra. Se concluyó que por los resultados dos de las muestras no son aptas para uso humano y que la precariedad de las condiciones en que se extrae y se expende el aceite presentan deficiencias sanitarias que afectan la calidad microbiológica del producto.

Palabras clave: *E. coli*, *Salmonella sp.*, mohos, prueba 61 de USP, prueba 62 de la USP.

ABSTRACT

In the present investigation, the microbiological quality of the *Corallus hortulanus* (yellow boa) oil, of ethnotherapeutic use in Iquitos, was determined. The study was descriptive, non-experimental, cross-sectional and the quality analyzes were based on the methodology described in the United States Pharmacopeial 40 (USP 40); Test 61 was applied, which allowed the microbial count and test 62, which identified specific microorganisms; Five samples were obtained from the commercial posts of Pasaje Paquito, selected by the simple random method. The results showed that two samples exceeded the allowed limit (> 1100) of mesophilic microorganisms, by the most probable number method (MPN) and in which the presence of *E. coli* and *Salmonella* spp. In addition, four of the samples had mold colonies, but they did not exceed the maximum allowed limit of 2×10^3 cfu / mL of sample. It was concluded that due to the results, two of the samples are not suitable for human use and that the precarious conditions in which the oil is extracted and sold present sanitary deficiencies that affect the microbiological quality of the product.

Keywords: *E. coli*, *Salmonella* sp., Molds, USP test 61, USP test 62.

INTRODUCCIÓN

Las poblaciones étnicas y rurales de la amazonia valoran los recursos naturales con que cuentan en su medio ambiente; por lo que, su uso es una opción, en casos de inflamaciones, dolencias articulares, picaduras, golpes y traumatismos, bien pueden recurrir a ungüentos de origen animal, entre ellos la manteca de boa negra, de sachavaca, lagarto, cerdo entre otras especies de fauna (1). Los aceites de algunos quelonios son usados en algunas etnias como medicina o cosmético (2).

Estas prácticas han alcanzado a la gente citadina, en la ciudad de Iquitos se puede encontrar diferentes aceites naturales en los mercados (3). En diversos artículos científicos se versa sobre el uso de recursos de fauna en medicina; ya sea como ungüentos, mantecas, aceites o cebos, sin uniformidad de denominación, por ser materia orgánica lipídica pueden conservarse por cierto tiempo; pero igual son susceptibles de alterarse por el calor y por microorganismos, más aún cuando su procesamiento de extracción, envasado y conservación no se da en un laboratorio que garantice su calidad (3,4).

En particular el aceite de boa es muy requerida para los dolores articulares y se puede adquirir en centros herbolarios en frascos de diferente material y forma, generalmente reutilizados, y sobre los cuales no se tiene ningún control de calidad. Su comercialización se da en ambientes de infraestructura precaria, que soporta las temperaturas tropicales y están expuestos al polvo y a la polución de insectos y roedoras.

Todo esto se da, a pesar de la protección y bienestar animal (Ley N° 30407 del 08 de enero de 2016); sin embargo, ante la realidad de su uso con fines medicinales y por el riesgo que conlleva su uso, es necesario conocer la calidad microbiológica de los “ungüentos naturales”. Sin embargo, estos productos deberían pasar por un control de calidad, para el caso de las formas farmacéuticas no estériles, es

determinante conocer la población de microorganismos e identidad de bacterias patógenas específicas, que puedan vehiculizarse en estos aceites.

Para el caso de la realidad local, se conoce que muchas personas acuden a diario al mercado de productos naturales más tradicional de la ciudad de Iquitos “Pasaje Paquito” y entre los remedios artesanales más buscados están los ungüentos de aceite de boa, lagarto, iguana, tortuga entre otras mantecas y aceites de animales que se expenden sin ninguna restricción (3). De manera que, la información generada de la presente investigación es relevante para los usuales consumidores además que contribuye en algo al expediente de estudios requeridos para refrendar su uso popular.

Sin embargo, es necesario conocer acerca de su calidad microbiológicos, y poder saber si no representa un riesgo de contaminación por microorganismos patógenos su eventual uso. Sobre todo, porque se trata de productos de origen animal que pueden alterarse más rápido en su composición por la presencia de microorganismos, cuya proliferación se vería favorecida por su exposición a la temperatura tropical y a las precarias condiciones de higiene al momento de su envasado, conservación y expendio.

De manera que se planteó determinar la calidad microbiológica del aceite de boa amarilla de uso etnomedicinal que se expende en Pasaje Paquito, Belén Loreto 2019, mediante la identificación de la carga de bacterias mesófilas, levaduras u hongos viables y la presencia de microorganismos patógenos como son *Pseudomonas aeruginosa.*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium sp.* (5,6).

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Cáceres (2018), en su tesis “Determinación de la calidad microbiológica de cosméticos capilares elaborados a base de compuestos naturales”, analizo 48 muestras de cosméticos capilares y determinó que el 17% de las muestras analizadas obtuvieron resultados fuera de especificación en recuento de mesófilos aerobios. Aisló e identificó a los microorganismos patógenos *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *E. coli* en los productos cosméticos capilares, mediante medios de cultivos selectivos y diferenciales. En el 58% de las muestras analizadas se determinó la presencia de patógenos o el crecimiento de alguna bacteria asociada a estos. El 17% de las muestras analizadas tuvieron presencia de *S. aureus*, el 4% de *P. aeruginosa* y el 2% de *E. coli*. Con respecto a los microorganismos asociados a estas bacterias patógenas, se obtuvo un 15% de muestras con presencia de coliformes, un 2% con presencia de *S. aureus* y un 19% que corresponde al crecimiento de bacterias pertenecientes al “Complejo *Burkholderia cepacia*” (CBc). En conclusión, se determinó que los cosméticos capilares comercializados en Lima metropolitana no cumplen con las especificaciones microbiológicas emitidas por los entes reguladores (4).

Dao et al. (2017), en su artículo “Microbial Stability of Pharmaceutical and Cosmetic Products” hace una revisión donde se presenta las fuentes posibles de microorganismos en las diferentes fases que pasa un cosmético desde su fabricación, exhibición y posventa; incluyendo los factores que favorecen la contaminación microbiana en productos farmacéuticos y cosméticos no estériles. Así como el uso de preservantes antimicrobianos, control de parámetros como humedad, pH y el uso de procesos de envasado adecuado. Concluyen que los contaminantes aceptados según la norma dependen del tipo de producto y que los microorganismos pueden controlarse controlando ciertos parámetros físicos y químicos, reduciendo la presencia de personas en la zona de fabricación,

controlando la permeabilidad de materiales de embalaje, seleccionando técnicas de envasado adecuadas y haciendo uso de preservantes; pero estos últimos muchas veces terminan por crear resistencia (5).

Gamal M. et al. (2015), en su artículo “Microbiological quality assessment of some Brands of cosmetic creams sold within alkhoms city, Libya”, procesaron un total de sesenta y tres (63) muestras de tres marcas diferentes de cremas cosméticas. Muestrearon 18 contenedores de cremas hidratantes para la piel, 27 contenedores de cremas de base y 18 contenedores de cremas blanqueadoras, las cuales fueron sometieron a examen microbiológico. Reportaron presencia de *Pseudomonas aeruginosa* (33,3%) y *Staphylococcus epidermidis* (55,5%) en la crema facial Novo. *S. epidermidis* (22,2%) en muestras de crema suave de Nivea. Las bacterias coliformes estuvieron ausentes en todas las muestras. El moho *Alternaria spp.* se aisló de una sola muestra de crema Novo (11,1%) y la levadura *Candidas pp.* se aisló de Nivea crema blanda (11,1%) y la presencia de bacterias anaerobias representada por *Clostridium perfringens* se detectó en el 11,1% de las cremas cosméticas analizadas. Se encontró que solo una muestra de: crema facial de la marca *Nivea soft cream*, crema de base *Jadore*, crema blanqueadora *Fair and Lovely* y crema blanqueadora Shirley contenían *C. perfringens* en cantidad de más de 1000 UFC / g de muestra, con excepción de la crema blanqueadora Shirley cuya tasa fue inferior a 1000 UFC / g; el resto de muestras analizadas estaban libres de contaminación bacteriana anaeróbica (6).

Kamal K et al. (2013), en su artículo “Prevalence of micro organisms in commonly used cosmetics simple in Dhaka metrópolis” se muestrearon 20 marcas de un total de 6 categorías de muestras estudiadas (jabón, champú, loción, lavado de cara, crema y petróleo), en el estudio identificaron y enumeraron los microorganismos que dañan este tipo de productos cosméticos y casi todas las cremas estaban contaminadas con bacterias viables totales (entre 10^3 a 10^5 ufc/g), presencia de especies de hongos (hasta 10^3 ufc/g). Prevalencia de *Staphylococcus sp.* *Pseudomonas spp.* y *Bacillus spp.* (dentro de un rango de 10^1 a 10^5 ufc/g) y ausencia

de actinomicetos. Entre las enterobacterias reportaron ausencia de *Escherichia coli* en todas las muestras analizadas, sin embargo, encontraron *Klebsiella sp.*(hasta 10^1 ufc /g), resultados que alertan sobre un gran riesgo para la salud pública asociado con las enfermedades entre los usuarios por lo que, recomendaron la importancia de contar con una guía adecuada para mantener una buena calidad microbiológica para dichos productos de uso tópico (7).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Boa amarilla “*Corallus hortulanus*”.

Orden: Squamata: Serpentes

Familia: Boidae

Nombre científico: *Corallus hortulanus*. Hay dos subespecies: *hortulanus* y *cooki*.

Nombre común: boa arborícola del Amazonas o boa arborícola de jardín.

La especie *Corallus hortulanus* (Linnaeus, 1758), no presenta veneno y no se le conoce subespecies.

Procedencia y características: Es de amplia distribución con presencia en los neotrópicos islas oceánicas y continentales; se le encuentra en las regiones arbóreas de clima cálido y de alta humedad tiene actividad diurna y nocturna. Encontrándose en la selva amazónica de Perú, Bolivia, Ecuador, Colombia, Venezuela, Guyana, Surinam, Guayana Francesa y Brasil. En la región amazónica la temperatura en el día es de unos 28°C y picos de calor a unos 30°C. y por la noche es en promedio de unos 25°C. Se calcula que puede vivir en promedio 15 años, su tamaño alcanza entre 1,50 y 2,10 m de longitud; con un peso para las hembras adultas entre 10 a 15 kg. y para los machos entre 8 a 12 kg (8).

Descripción: Esta serpiente es muy delgada, tiene una cabeza bien definida y diferenciada del cuello, sus ojos grandes de pupilas verticales, y un par de fosetas termo-receptoras que le ayudan a distinguir el calor emitido por los cuerpos. Su cola

es larga y prensil. El color dorsal y patrón de coloración es muy variable, debido a que existen muchas fases de coloración, predominando el color café grisácea, también el color amarillo y rosáceo a rojizo; con una franca oscura parietal y otra post-orbital que desciende hasta los confines de la boca y dos hileras de manchas de diamante o círculos con centros claros y fronteras amarillas en la parte distal hay mezcla de las manchas y el vientre es blanco o amarillento (8).

Usos: El aceite de boa amarilla por su condición de ser térmico es usado indistintamente como frotación oleosa, para tratar diferentes enfermedades naturales y sobrenaturales entre las más notorias: luxaciones, inflamaciones, y otras enfermedades de enfriamiento y calor. La forma artesanal de administración es la grasa macerada en aguardiente por frotación sobre la zona afectada del cuerpo (1).

2.2.2. Estabilidad de productos de uso terapéutico o cosmético

Los compuestos químicos de uso terapéutico o cosmético pueden alterarse por causas: físicas como son la temperatura, pH y radiación; por reacción con sustancias químicas como son agua, oxígeno y otros gases ambientales o por reacciones con el envase inmediato; o por la actividad biológica de microorganismos presentes en los productos.

Estos cambios se pueden favorecer por deficiencias en los procesos desde la obtención de los insumos, producción, almacenamiento, transporte, exhibición y dispensación, que finalmente termina con el uso por el consumidor final. Los productos farmacéuticos y cosméticos llevan estabilizantes y preservantes para evitar la proliferación de los microorganismos presentes; pero para el caso de productos de origen biológico de uso en salud que están artesanalmente comercializados son particularmente sensibles a su degradación por la actividad metabólica de los microorganismos y las condiciones en que se obtiene, almacena y comercializa (4,5).

Los medicamentos y los cosméticos que por su proceso de fabricación se realiza en un sistema abierto pueden contener microorganismos viables que no representen peligro de infecciones en los usuarios y que su cuantía se mantenga por debajo de los límites establecidos por la norma sanitaria, a fin de que no cause cambios en los componentes del producto y pierda su eficacia. La prueba de recuento de bacterias mesófilas totales y la prueba de recuperación de bacterias patógenas practicada como medida de control de calidad para garantizar que el producto es seguro, estable y eficaz. Para el caso de los ungüentos naturales como son aceites y mantecas de reptiles usados de manera ancestral, no hay norma que regularice su comercialización, que se viene dando en mercados y mercadillos, ambientes que de por si son una fuente de contaminantes micro orgánicos (5).

2.2.3. Microorganismos examinados en formas farmacéuticas y cosméticas de uso dérmico

Las instituciones gubernamentales encargadas del control de calidad de insumos y productos de uso terapéutico, han determinado que los contaminantes microbiológicos de identificación obligatoria son las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp.*, *C. perfringens*, *E. coli*, y *Salmonella spp.*; así como la búsqueda de la presencia de levaduras y mohos (4).

Staphylococcus aureus, es una bacteria de 0,5 a 1,5 µm se le observa al microscopio en células sueltas o agrupadas en racimos. Es un microorganismo patógeno para el hombre, que puede producir infecciones de gravedad variable, desde infecciones dérmicas e invasivas de alta peligrosidad: neumonía necrosante, osteomielitis y sepsis; hasta intoxicaciones alimentarias que en ocasiones han ocasionado intoxicaciones masivas (4) (9).

Esta bacteria crece bien en medios como agar sangre, agar chocolate, agar cerebro corazón infusión sin embargo el medio recomendado es el agar Manitol salado o agar Chapman que tienen un alto contenido de sal, que no permite el crecimiento

de bacterias Gram negativo, permitiendo que el *S. aureus* crece desarrollando un pigmento amarillo y se diferencia de las demás especies de este género, además se le diferencia porque coagula del plasma y por ser capaz de producir fosfatasa alcalina (10).

Pseudomonas sp. es una bacteria abastionada de 0,5 a 1,0 μm de diámetro, es aerobia facultativa, patógena para el hombre. Posee en el flagelo la proteína *FliD* que le sirve para adherirse a la membrana respiratoria, y para bloquear la inducción de la respuesta inflamatoria y su destrucción por los macrófagos, la *P. aeruginosa* detiene la producción de la flagelina transformando su fenotipo a una cepa mucoide; luego induce la síntesis del polisacárido alginato, que es causante de la injuria al parénquima (11).

Clostridium sp. cuyas especies patógenas más relevantes en medicina son *C. Botulinum* (su toxina produce parálisis muscular), *C. Perfringens* (es bastante aerotolerante, produce 12 toxinas), *C. difficile* (produce colitis pseudomembranous) y *C. tetani* (produce la temible tetanoplasmina, toxina dipeptídica que causa daño motor), estas y otras especies de *Clostridium* histotóxicas, bacilos gram (+) anaerobios, que producen esporas, con cepas en su mayoría que poseen flagelo que les confiere movimiento. Estas especies habitan en el suelo, y suelen formar parte de la microflora intestinal de especies animales y el hombre (12).

Escherichia coli, es la enterobacteria comensal inocua predominante de la microflora intestinal; colonizadora temprana, que ingresa al intestino casi inmediatamente después del nacimiento, útil al hombre por proveer diferentes tipos de vitaminas del complejo B y la vitamina K, así mismo se encuentra en el intestino de animales de sangre caliente y sin embargo hay cepas productoras de toxina Shiga causante de infecciones intestinales, siendo el más tóxica el serotipo *E. coli* O157: H7 (13).

Salmonella sp. es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo que se le aísla del tracto gastrointestinal de animales y del medio ambiente, es capaz de adaptarse a temperaturas de refrigeración, no esporula y posee flagelos peritricos. Se le adquiere por contaminación fecal-oral o consumiendo agua o alimentos contaminados (14,15).

Levaduras, son células eucariontes que cambian sus características según la temperatura a del cultivo, tienen una amplia aplicación en la biotecnología por su capacidad enzimática son útiles en médica y en la industria. Se les usa para procesos fermentativos en bebidas, alimentos y proteínas (14).

Mohos, son hongos que presentan micelio que se reproducen por esporas, son aerobios facultativos poseen una facilidad para adaptarse a diferentes condiciones ambientales, que otros muchos microorganismos no podrían. Pueden vivir en medios ácidos o básicos superiores a los que muchas bacterias no sobrevivirían (pH de 2-9), así como a rangos de temperatura de 10 a 40°C (14).

2.2.4. Prueba de estabilidad microbiológica que se aplica a productos no estériles.

La prueba 61 de la farmacopea USP corresponde a la prueba de límite microbiano o control microbiológico consiste en el recuento de bacterias mesófilas (aerobios) y hongos que se pueden recuperar de una muestra. Además de acuerdo a la prueba 62 de la farmacopea USP que corresponde a la prueba de microorganismos específicos se busca identificar bacterias patógenas para el hombre como son *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y otras bacterias tolerantes a la bilis, *Pseudomona aeruginosa*, *Clostridium spp.* *Staphylococcus aureus* (15).

A. La **prueba 61** en la fase preanalítica se adquieren cepas control, se preparan los medios de cultivo y los diluyentes a utilizar para la promoción de crecimiento bacteriano en la prueba de actitud de recuento y controles negativos.

Todo esto por si se requiera confirmar la aptitud, siempre que se introduce un cambio en la realización de la prueba o en el producto que pudiera afectar los resultados del análisis (15).

Para efectos de determinar el límite microbiano (prueba 61) se seleccionó el método del Número Más Probable (NMP), que es un método alternativo menos preciso y exacto al de filtración por membrana o método de recuento en placa. El recuento de hongos filamentosos es más impreciso. Se prepara una serie de al menos tres diluciones decimales en serie del producto por triplicado, usando tres alícuotas de 1 g o 1 mL con 9 mL de caldo digerido de Caseína y Soja, de ser necesario se puede agregar polisorbato 80. En resumen, se tendrá tres niveles de dilución con un total de nueve tubos, que se incubaran a una temperatura de 30° a 35° durante no más de 3 días. Si la lectura de los resultados fuera dudosa se subcultivan en el mismo caldo durante un período de 1 a 2 días a la misma temperatura. El NMP se determinará con ayuda de la tabla (anexo 1) (15).

B. La prueba 62 o prueba de microorganismos específicos examina a productos no estériles en busca de: bacterias gram-negativas tolerantes a la bilis (*Salmonella*), *Escherichia coli*, y *Pseudomona aeruginosa*, *Clostridium sp.* y *Staphylococcus aureus*. El proceso de siembra para la recuperación de dichas bacterias se da a partir de una dilución 1 en 10 indicada en la prueba 61 y luego de mezclar se incuba a una temperatura de 20° a 25° durante un período suficiente para resucitar las bacterias por lo general 2 horas, pero no más de 5 horas (15).

Escherichia coli la muestra se diluye 1:10 con caldo caseína soya y luego se incuba a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 24 horas. La selección y subcultivo se realiza agitando el recipiente para luego transferir 1 mL de Caldo Digerido de Caseína y Soja a 100 mL de Caldo Mac Conkey e incubar a una temperatura de 42° a 44° durante un período de 24 a 48 horas. El segundo subcultivo se realiza en una placa de Agar Mac Conkey a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 72 horas. El crecimiento de colonias indica la posible

presencia de *E. coli*. El producto cumple con la prueba si no se desarrollan colonias o si los resultados de las pruebas de identificación son negativos (15).

Salmonella sp., la muestra se diluye 1:10 con caldo Caseína Soya y luego se mezcla e incuba a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 24 horas. La selección y subcultivo consiste en transferir 0,1 mL de Caldo Digerido de Caseína y Soja a 10 mL de Caldo Rappaport-Vassiliadis para enriquecimiento de *Salmonella* e incubar a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 24 horas. Posteriormente se pasa a placas de Agar Xilosa, Lisina, Desoxicolato y se incubar a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 48 horas. El crecimiento de colonias bien desarrolladas de color rojo, con o sin centros negros indica la posible presencia de *Salmonella*. Esto se confirma mediante pruebas de identificación. El producto cumple con la prueba si no se desarrollan colonias de los tipos descritos o si los resultados de las pruebas de identificación confirmatorias son negativos (15).

Pseudomonas aeruginosa se desarrolla colocando en 1 en 10mL de Caldo Digerido de Caseína y Soja se incuba de 30° a 35° durante un período de 18 a 24 horas. La selección y subcultivo se da en una placa de Agar Cetrimida incubada a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 72 horas. El crecimiento de colonias indica la posible presencia de *P. aeruginosa*. Esto se confirma mediante pruebas de identificación. El producto cumple con la prueba si no se desarrollan colonias o si los resultados de las pruebas de identificación confirmatorias son negativos (15).

Staphylococcus aureus se coloca el inóculo en 100 mL de Caldo Digerido de Caseína y Soja y se incuba a 30° a 35° durante un período de 18 a 24 horas, luego la selección y subcultivo se hace en una placa de agar Manitol salado e incubado a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 18 a 72 horas El desarrollo de colonias amarillas o blancas rodeadas de una zona amarilla indica la posible presencia de *S. aureus*. Esto se confirma mediante pruebas de identificación. El

producto cumple con la prueba si no se desarrollan colonias de los tipos descritos o si los resultados de las pruebas de identificación confirmatorias son negativos (15).

Clostridium sp. se siembra una dilución de 1 en 10 (con un volumen total mínimo de 20 mL) de no menos de 2 g o 2 mL de la muestra. La muestra se divide en dos porciones de al menos 10mL cada una. Una porción se calienta a una 80° por 10 minutos y enfriar rápidamente. No calentar la otra porción producto. Para la selección y subcultivo se usa 10 mL o la cantidad correspondiente a 1 g o 1 mL del producto a analizar, para ambas porciones a fin de inocular cantidades adecuadas en agar Columbia (15). Estas muestras reciben tratamiento térmico a fin de recuperar la forma vegetativa. Después de la incubación se realizan subcultivos a partir de cada recipiente en agar Columbia e incuban bajo condiciones anaeróbicas a una temperatura de 30° a 35° durante 48 a 72 horas. El crecimiento anaeróbico de bacilos (con o sin endosporas) que dan una reacción de catalasa negativa indica la presencia de *Clostridium*. Esto se confirma mediante pruebas de identificación. Si no se detectan colonias de los tipos descritos o si las pruebas de identificación confirmatorias resultan negativas, el producto cumple con la prueba (15).

Candida albicans: Se realiza la Pruebas de Recuento Microbiano (61) y se usa 10 mL o la cantidad correspondiente a no menos de 1 g ó 1 mL, para inocular 100 ml de *Caldo Sabouraud Dextrosa* y mezclar. Luego se incuba a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 3 a 5 días. La selección y subcultivo se realiza en una placa de *Agar Sabouraud Dextrosa* e incubar a una temperatura de 30° a 35° durante un período de 24 a 48 horas. El crecimiento de colonias blancas puede indicar la presencia de *C. albicans*. Esto se confirma mediante pruebas de identificación. El producto cumple con la prueba si no se desarrollan tales colonias o si las pruebas de identificación confirmatorias resultan negativas (15).

2.3. Definición de términos operacionales

Estabilidad es una condición de permanencia o duración de las cualidades terapéuticas o cosméticas del componente farmacéutico activo, y de sus propiedades físicas, químicas, tecnológicas y microbiológicas.

Calidad de un producto farmacéutico: alude a la condición de eficacia y seguridad de un producto de uso terapéutico o cosmético que satisface una cierta necesidad en la recuperación de la salud.

Calidad microbiológica: Es un estándar de calidad que deben cumplir todos los productos destinados para la recuperación de la salud. Para el caso de las preparaciones farmacéuticas estériles elaborados en un sistema cerrado deberán cumplir con la condición de esterilidad. Y para los preparados farmacéuticos no estériles que se elaboran en un sistema abierto deben cumplir criterios de aceptabilidad del número total de microorganismos aerobios y de mohos y levaduras, así como la ausencia de patógenos específicos descritos en las farmacopeas.

Aceite animal: sustancia grasa líquida hidrofóbica, con densidad menor que la del agua, formada por ésteres de ácidos grasos.

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. HIPÓTESIS

Ha: El aceite de *Corallus hortulanus* (boa amarilla) de uso medicinal que se venden en *Pasaje Paquito* contiene microorganismos que están dentro de los límites permitidos y no son patógenos.

3.2. DEFINICIONES OPERACIONALES DE LAS VARIABLES

Variables en estudio

- Recuento de microorganismos: es la valoración numérica de bacterias aerobias mesófilas, levaduras y hongos presentes en un producto, que se realiza de acuerdo a la prueba 61 descrita en la USP 40 (15).
- Microorganismos patógenos: son especificados en la prueba 62 de la USP 40 por su patogenicidad y corresponde a las especies *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, y *P. aeruginosa*, *Clostridium sp.* y *S. aureus*. y debe determinarse su presencia / ausencia (15).

Operacionalización de variables

Variables independientes	Definición operacional	Tipo de variable	Indicador	Escala de medición	índice	Medio de verificación
Recuento de microorganismos	Es el recuento numérico de bacterias mesófilas y hongos que pueden desarrollarse en el aceite de boa expandido en Pasaje Paquito en condiciones aeróbicas.	Cuantitativa discreta	Colonias de bacterias mesófilos Colonias de levaduras Colonias de hongos miceliales	escalar escalar escalar	NMP/mL ufc /mL ufc /mL	Tubos de caldo digerido de Caseína-Soja Placa de agar Sabouraud Dextrosa Placa de Agar Sabouraud Dextrosa
Microorganismos específicos	Son bacterias que comprometen la calidad de un producto destinado para uso o consumo humano	Cualitativa	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus aureus.</i> • <i>Pseudomonas sp.</i> • <i>Escherichia. coli</i> • <i>Salmonella sp.</i> • <i>C. perfringens</i> 	nominal	presencia/ ausencia	Agar Manito salado Agar Cetrimida Agar MacConkey Agar Xilosa lisina desoxicolato Agar Columbia

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. DISEÑO METODOLÓGICO

La investigación fue de tipo descriptivo, porque a partir de la observación de los cultivos se obtuvo el recuento de contaminantes y la presencia o ausencia de microorganismos patógenos. De diseño no experimental, transversal, porque solo se presenta como resultados la calidad microbiológica de las muestras. Por su desarrollo en el tiempo fue prospectivo, ya que el registro de información se tomó en cuenta los hechos a partir del inicio de la fecha del estudio.

3.2. DISEÑO MUESTRAL

La población en estudio fue el aceite de boa amarilla, que se expende en *Pasaje Paquito* distrito de Belén, provincia de Maynas departamento de Loreto. Se adquirió cinco muestras de los puestos de venta luego de elegir el puesto por muestreo aleatorio simple.

3.3. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- a. Se aclimató el material de laboratorio para darle condiciones de esterilidad.
- b. Se preparó los medios de cultivo y reactivos requeridos para ejecutar la prueba 61 y 62 según la USP 40.
- c. Se adquirieron las muestras de aceite de boa en *Pasaje Paquito*.
- d. Se realizaron las siembra para el recuento de bacterias mesófilas totales (figura 1).
- e. Se propició el enriquecimiento de las bacterias patógenas en caldo (figura 2).
- f. Se recuperó y aisló las bacterias patógenas establecidas en la prueba 62 en medios selectivos (figura 2).

- g. Se verificó si las colonias de cada medio se ajustaban a la descripción dada en la tabla 2. Si no se encuentra parecido entonces se determina la ausencia de la referida bacteria.

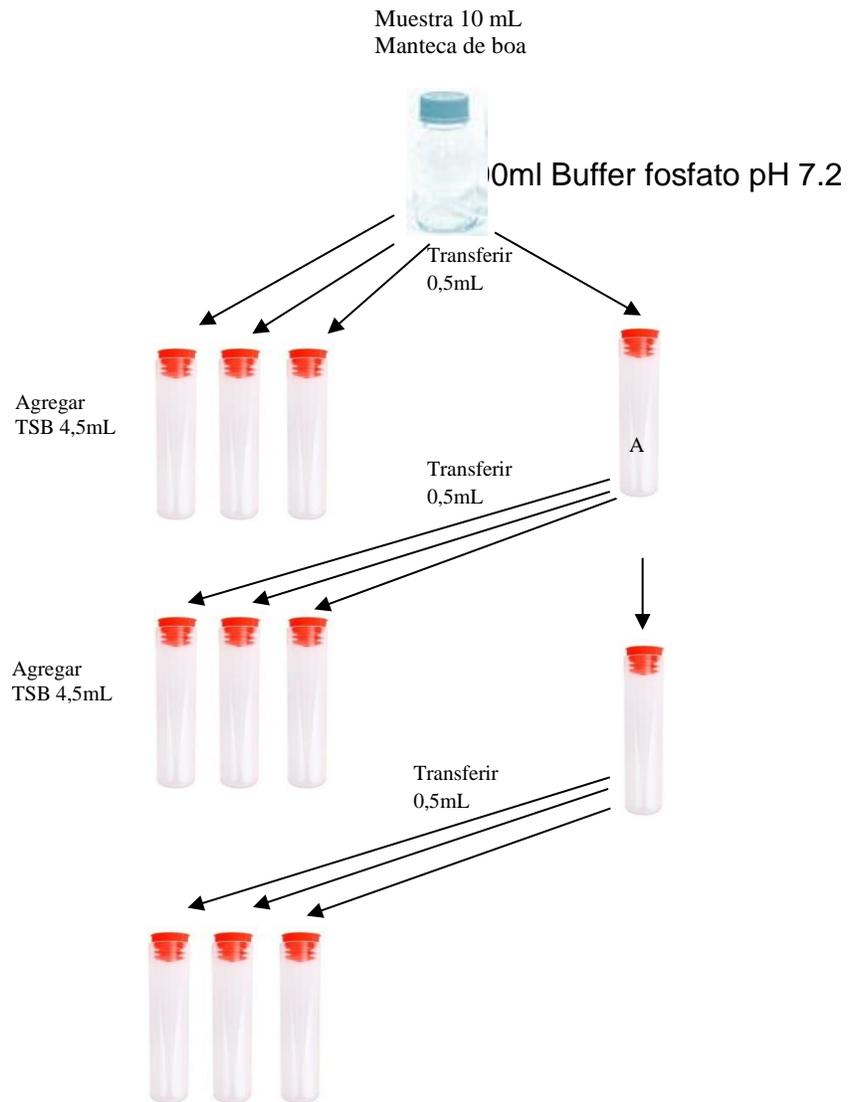
Tabla 1. Indicadores microbiológicos para expresar los resultados deseables en las muestras.

Microorganismos	Limite mL/mL	Medio de cultivo
Aerobios mesófilos	≤1100	Caldo soya tripticasa
Mohos y levaduras	2x10 ³	Agar Sabouraud dextrosa
<i>S. aureus</i>	Ausente	Agar Manitol salado
<i>P. aeruginosa</i>	Ausente	Agar Cetrimida
<i>Salmonella sp.</i>	Ausente	Agar xilosa, lisina, desoxicolato
<i>E. coli</i>	Ausente	Agar Mc Conkey
<i>Clostridium sp.</i>	Ausente	Agar Columbia

La tabla 1, es un referente tomado de la USP 40, útil para determinar la calidad microbiológica de las muestras a partir de los resultados obtenidos de las diferentes muestras.

Tabla 2. Características morfológicas de las colonias de bacterias específicas en el medio de aislamiento.

Bacteria	Medio Selectivo	Morfología de las colonias
<i>S. aureus</i>	Agar Manitol salado	Color amarillo dorado
<i>P. aeruginosa</i>	Agar Cetrimide	Generalmente verdosas
<i>Salmonella spp.</i>	Agar XLD	Trasparentes con centro negro, Paratyphi A rosadas y las lactosa (-) amarillas con o sin centro negro
<i>E. coli</i>	Agar Mc Conkey	Color rosa y pueden tener una zona de bilis precipitada alrededor, la cepa <i>E. coli</i> enterohemorrágica puede dar colonias incoloras.
<i>Clostridium sp.</i>	Agar Columbia	Generalmente blancas con o sin un halo claro



Incubar: 35°C x 24-48h Lectura: Tabla NMP

Figura 1. Recuento Total de Aerobios Mesófilos (NMP).

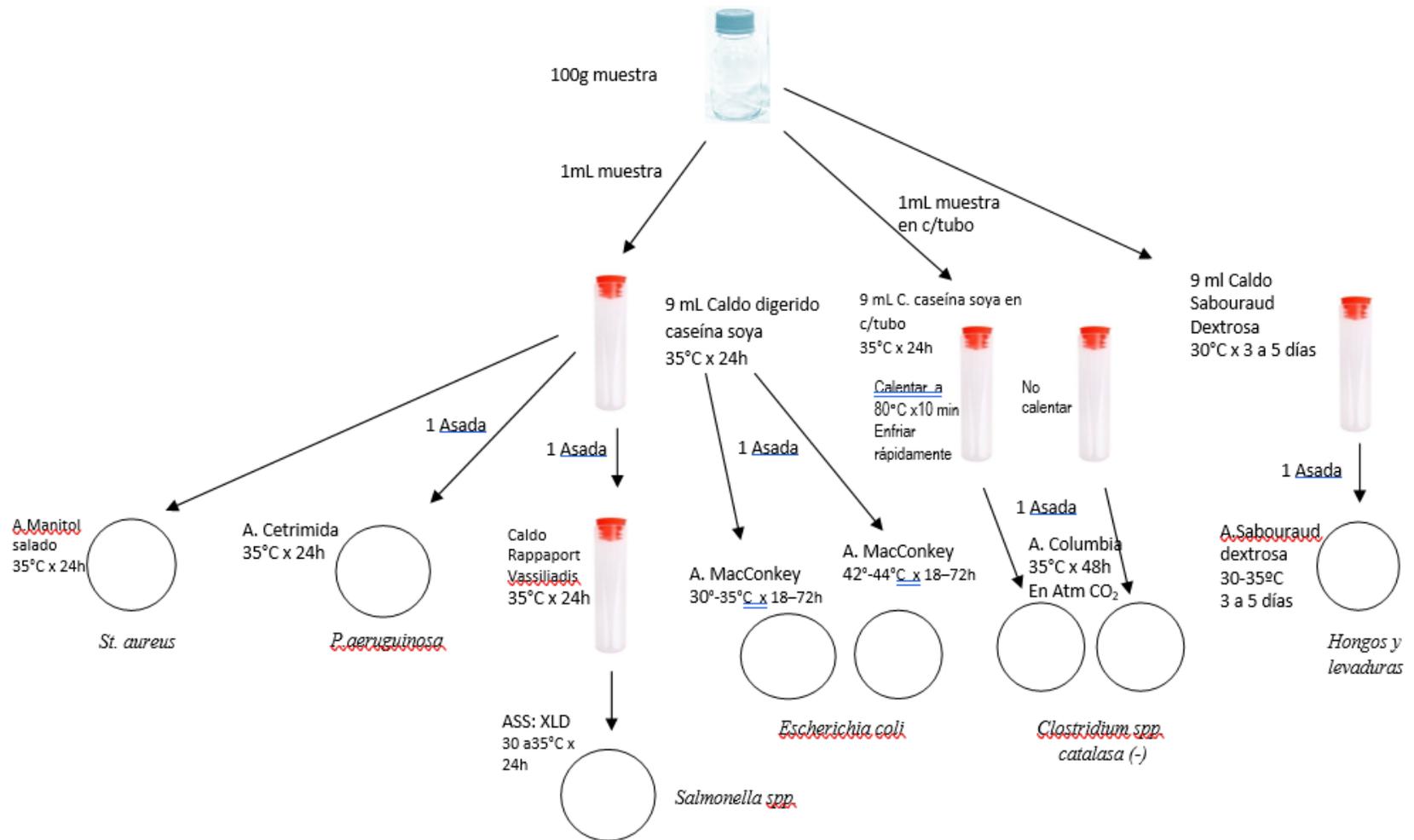


Figura 2. Prueba para identificar microorganismos específicos.

3.4. PLAN DE ANALISIS E INTERPRETACIÓN

Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos se expresan en términos de valores resultantes de cumplimiento para ensayos de límites microbianos de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, las enterobacterias como *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, y por último aerobios y hongos, será según la estadística descriptiva.

3.5. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio no atenta contra la especie y solo se trabaja con el aceite que se comercializa en *Pasaje Paquito* del mercado de Belén.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

4.1. Recuento total de microorganismos presentes en las muestras de boa

Tabla 3. Resultados obtenidos en el análisis de aerobios mesófilos totales en las cinco muestras de aceite de boa, adquirida en el mercado herbolario *Pasaje Paquito* del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto, según la lectura de los tubos con ayuda de la tabla del anexo 1.

N° muestra	Tubos c/crecimiento por dilución	NMP por mL de producto	LC al 95%
1	3-0-0	23	5-94
2	3-3-0	240	40-990
3	3-0-0	23	5-94
4	3-3-3	>1100	No reportado
5	3-3-3	>1100	No reportado

Según la tabla 3 se determinó en el análisis de bacterias aerobias mesófilos de las cinco muestras de boa, todas presentaban contaminación y según el recuento por el método del número más probable (NMP) dos muestras la 4 y 5 superaban el límite máximo permitido.

Las cinco muestras de boa adquirida en el mercado herbolario *Pasaje Paquito* del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto; fueron inoculadas en Caldo Sabouraud dextrosa a 35°C x 24 h, y repicadas en Agar Sabouraud incubado a 34°C x 48 hrs. El análisis para detectar la presencia de levaduras dio negativo para todas las muestras.

Tabla 4. Resultados obtenidos en el análisis de mohos de las cinco muestras de aceite de boa adquirida en el mercado herbolario “Pasaje Paquito” del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto.

N° muestra	UFC/mL de muestra (repeticiones)		
	1	2	3
1	Ausencia	Ausencia	Ausencia
2	8x10 ² ufc	6x10 ² ufc	6x10 ² ufc
3	8x10 ² ufc	8x10 ² ufc	6x10 ² ufc
4	3x10 ² ufc	2x10 ² ufc	3x10 ² ufc
5	1x10 ² ufc	Ausencia	1x10 ² ufc

Según la tabla 4, se determinó el análisis de mohos, primero se enriqueció en caldo Sabouraud dextrosa a 30°C x 3 a 5 días y se resembró en agar Sabouraud a 30°C x 3 a 5 días donde se identificó colonias de mohos en cuatro muestras.

4.2. Análisis de microorganismos específicos

Las cinco muestras de boa adquirida en el mercado herbolario “Pasaje Paquito” del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto; fueron inoculadas en Caldo digerido caseína soya a 35°C x 24 h, repicadas en agar Caldo Soya Trypticasa (TSB) y luego inoculadas en agar Manitol salado y si bien todas resultaron negativas para *Staphylococcus aureus*; sin embargo, en todas excepto en la muestra 2 se recuperaron colonias compatibles con *Staphylococcus epidermidis*.

Las cinco muestras de boa adquirida en el mercado herbolario “Pasaje Paquito” del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto; fueron inoculadas en Caldo digerido caseína soya a 35°C x 24 h, repicadas en agar Caldo Soya Trypticasa (TSB) y luego inoculadas en agar Cetrimida. para aislar *Pseudomonas aeruginosa*; sin embargo, todas resultaron negativas.

Tabla 5. Resultados obtenidos en el análisis de *Salmonella sp.* de las cinco muestras de aceite de boa adquirida en el mercado herbolario “Pasaje Paquito” del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto.

N° muestra	Presencia de UFC en la muestra (repeticiones)		
	1	2	3
1	Ausencia	Ausencia	Ausencia
2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
3	Ausencia	Ausencia	Ausencia
4	Presencia (++)	Presencia (+)	Presencia (+)
5	Presencia (++)	Presencia (++)	Presencia (+++)

Según la tabla 5, se analizó la presencia de especies de *Salmonella spp.* con un pre enriquecimiento en caldo digerido caseína soya 35°C x 24 h y repicado en caldo Rappaport Vassiliadis 35°C x 24 h y luego resembrado en agar Xilosa, Lisina, Desoxicolato (XLD); se aisló colonias compatibles a colonias de *Salmonella spp.* en dos muestras (4 y 5).

Tabla 6. Resultados obtenidos en el análisis de *E. coli* de las cinco muestras de aceite de boa adquirida en el mercado herbolario *Pasaje Paquito* del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto.

N° muestra	Presencia de UFC en la muestra (repeticiones)		
	1	2	3
1	Ausencia	Ausencia	Ausencia
2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
3	Ausencia	Ausencia	Ausencia
4	Presencia	Presencia	Presencia
5	Presencia	Presencia	Presencia

Según la tabla 6, se analizó la presencia de *E. coli* de las cinco muestras de boa, inoculadas en caldo digerido caseína soya a 35°C x 24 h y luego repicada en Agar Mac Conkey. Donde se aisló colonias compatibles con las descritas para *E. coli*.

Las cinco muestras de boa adquirida en el mercado herbolario "Pasaje Paquito" del mercado Belén, distrito de Belén, provincia de Maynas, departamento de Loreto; fueron inoculadas en Caldo digerido caseína soya a 35°C x 24 h, repicadas en dos tubos con agar Caldo Soya Trypticosa (TSB) una tratamiento a 80° x 10 min y otra no calentado y luego inoculadas en agar Columbia para aislar *Clostridium spp.*; sin embargo, todas resultaron negativas.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

En productos de uso dermatológico es de exigencia normada por los organismos reguladores determinar su calidad microbiológica **Cáceres (2018) y Dao et al. (2017)** (3,4). Los productos de aplicación dérmica suelen tener un alto contenido de sustancias lipídicas; sin embargo, pueden vehiculizar microorganismos, como lo refrendan los estudios de **Gamal M. et al. (2015)** (6), quien reportó presencia de los patógenos *P. aeruginosa*, *C. perfringens* en cremas cosméticas. Esta condición de fragilidad de los productos dérmicos para ser afectada por microorganismos ha obligado a usar preservante y a mantener ciertas condiciones físico químicas en el producto que le den estabilidad (5).

En el caso de las muestras de aceite de boa de uso popular, por un tema sanitario se evaluó su calidad microbiológico según la prueba 61 y 62 de la USP 40 que aplica a productos preparados en un sistema abierto. Este producto artesanal es apreciado por diferentes grupos étnicos y ciudadanos como lo prueba su comercialización en Pasaje Paquito y su calidad según la prueba 61 dado los resultados expresados en la tabla 1 todas las muestras presentaron bacterias aerobias mesófilas y al analizar el NMP por mL de muestra, se determinó que la muestra 4 y 5 superaban el límite microbiológico permitido (≤ 1100), por lo tanto, resultaron no ser aptas para uso humano. Estos resultados coinciden con los resultados de **kamal et al. (2013)** que reportó en cremas cosméticas, bacterias viables totales entre 10^3 a 10^5 ufc/g (7).

Los resultados de los análisis de calidad microbiológica de las muestras 1, 2 y 3, reportan bacterias aerobias mesófilas viables (tabla 3) pero no se identificó microorganismos patógenos específicos; esto podría deberse a la presencia de bacterias ambientales saprófitas. Esto debido a la manipulación repetida del producto, ya que se envasa en recipientes de mayor capacidad y luego se vierte en envases pequeños cada vez que son requeridos para la venta.

En el presente estudio al desarrollar la prueba 62 para determinar la presencia de patógenos específicos los resultados fueron variados. En el agar manitol salado en todas las muestras no se apreció desarrollo de *S. aureus*, pero en la muestra 2 se apreció colonias compatibles con *S. epidermidis*. Para el caso de la detección de *Clostridium spp. en agar Columbia* tanto las muestras calentadas y enfriadas rápidamente, como las muestras que no recibieron tratamiento térmico resultaron negativas. Para el caso de la especie *Pseudomonas spp.* también se obtuvo resultado negativo en todas las muestras. Estos resultados son favorables porque las tres especies pueden producir afecciones en la piel, que es el órgano donde suele aplicarse con gran fricción para lubricar y calentar la zona de intervención.

En las investigaciones de **Kamal et al.**, si se reportó la presencia de *Staphylococcus spp. Pseudomonas spp.* (7); y la especie *Clostridium perfringens* fue reportada por **Gramal et al.** en cremas (6).

Comparar estos resultados con reportados en otros estudio de calidad de productos cosméticos es un poco inequitativo, porque el aceite de boa básicamente es un aceite fijo compuesto de ácidos grasos, mientras que la composición de productos cosméticos manufacturados son emulsiones, como los muestreados por **Cáceres (2018), Gamal et al. (2015) y Kamal et al. (2013)** (4) (6) (7); que además de grasas tienen otros componentes orgánicos que representan un medio nutricional más variado. Además, tienen un cierto contenido de agua que es vital para el desarrollo de microorganismos. En la búsqueda bibliográfica no se encontró artículos que reporten análisis de aceites de uso etnomedicinal.

Al analizar especies de enterobacterias, las muestras 4 y 5 presentaron colonias compatibles con *E. coli* en agar Mac Conkey y de *Salmonella spp.* en agar XLD. Su presencia bien puede deberse a una suerte de encuentro con una boa; por lo que, este aceite se obtiene en un ambiente natural y de manera no programada; que hace del proceso de muerte del animal, de la extracción y conservación de los tejidos grasos para su posterior obtención y almacenamiento del aceite. Finalmente

llega a los puestos donde se comercializa, donde tampoco está exento de tener contacto con el excremento de roedores, que son la principal fuente de contaminación de estas especies de Enterobacterias. En el estudio de **Kamal et al.** se reportó presencia de *Klebsiella spp.* (7) otra Enterobacteria que también es de riesgo en salud pública; quién si reportó *E. coli* en cosméticos capilares fue **Cáceres (2018)** (4).

En ninguna de las muestras se encontró levaduras, podría explicarse por el contenido casi en su totalidad de ácidos grasos y la ausencia de azúcares; contrariamente **Gamal et al. (2015)** si reportó presencia de *Candida sp.* en muestras de crema nívea y también reportó presencia del moho *Alternaria sp.* (6) En el presente estudio cuatro muestras (exceptuando a la primera) presentaron colonias de mohos en la placa de agar Sabouraud dextrosa por debajo del LMP.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

De las cinco muestras analizadas, dos de ellas por superar el límite máximo permitido (>1100 NMP/mL) de microorganismos mesófilos aerobios totales, sin importar el tipo de microorganismos presentes quedan desestimadas para uso humano. El análisis de levaduras y mohos en todas las muestras no superaron el Límite de colonias permitidas (2×10^3) por lo que no permitió excluir a ninguna de las cinco muestras. Por la presencia de *Salmonella sp.* y *E. coli* se sumó a la exclusión de las dos muestras que superaban el NMP de mesófilos aerobios totales.

La presencia de Enterobacterias exigidas en su determinación *E. coli* y *Salmonella sp.* reveló que estos productos se contaminaron en algún momento y de alguna manera con materia fecal, lo que revela la precariedad de las condiciones en que se procesa este aceite.

Si bien no se encontró *S. aureus*, si se aisló de una muestra *S. epidermidis*; lo que puede deberse a que las personas cuando procuran comprar este producto, la vendedora les aplica a veces de forma repetida el aceite en la piel, donde suele habitar este tipo de bacterias.

La ausencia de *Pseudomona spp.* y *Clostridium sp.* en todas las muestras son un indicativo de que, hay cierto cuidado en el manejo de las muestras o que por su composición grasa no facilitan la vehiculización de estas bacterias.

Las levaduras no se encontraron, no así los mohos que en cuatro de las cinco muestras se observaron en agar Sabouraud; pero la cantidad de colonias estaba dentro de los límites permitidos; esto considerando que son microorganismos ubicuos y se reproducen por esporas es casi imposible su ausencia.

CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES

En atención a los resultados es de necesidad difundir los resultados entre los comercializadores de estos productos naturales de uso medicinal y tener talleres para mejorar las condiciones de exhibición, fraccionamiento y conservación de estos productos oleosos.

Se requiere plantear estudios para caracterizar la composición de los aceites que se expenden para uso medicinal, aun cuando su aplicación sea externa es necesario conocer de su pureza.

CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Atequipa J, Cabrera E. Evaluación del efecto antiinflamatorio de la grasa de Boa constrictor constrictor “boa mantona” comercializada en el emporio comercial de Gamarra - La Victoria. LIMA 2015. Tesis. LIMA: Universidad Norbert Wiener, Lima.
2. Castro Casal A MFMGRMCTMGVF. so histórico y actual de las tortugas charapa (*Podocnemis expansa*) y terecay (*Podocnemis unifilis*) en la Orinoquia y la Amazonia.. *Biota Colomb.* 2017; 14(1): p. 45–64.
3. Rengifo-Salgado E, Rios-Torres S, Fachín L, vargas-Arana G. Saberes ancestrales sobre el uso de flora y fauna en la comunidad indígena Tikuna de Cushillo Cocha, zona fronteriza Perú-Colombia-Brasil. *Revista peruana de biología.* 2017; 24(1): p. 067-078.
4. Cáceres M. Metropolitana, Determinación de la calidad microbiológica de cosméticos capilares elaborados a base de compuestos naturales comercializados en Lima. Tesis. Lima: Universidad Ricardo Palma, Lima.
5. Dao H, Lakhani P, A. P, Kallakunta V, Srinivas S, Wu K, et al. Microbial Stability of Pharmaceutical and Cosmetic Products. *AAPS PharmSciTech.* 2017;: p. 1-20.
6. Gamal M, Abo A. Microbiological Quality Assessment of Some Brands of Cosmetic Creams Sold Within Alkhoms City, Libya. *IOSR-JDMS.* 2015; 14: p. 60-65.
7. kamal K, Kazi K, Ifra T, Rashed N. Prevalence of micro organisms in commonly used cosmetics samples in dhaka metropolis. *JPSI.* 2013; 2(69): p. 7-9.

8. Reynolds G, Henderson R. Boas of the World (Superfamily Booidae): A Checklist With Systematic, Taxonomic, and Conservation Assessments. 2018; 162(1): p. 2 - 63.
9. Guillén R, Carpinelli L, Rodríguez F, Castro H, Quiñónez B, A. C, et al. Staphylococcus aureus adquiridos en la comunidad: caracterización clínica, fenotípica y genotípica de aislados en niños paraguayos. Rev Chilena Infectol. 2016; 33 (6): p. 609-618.
10. Bakker P, Woerdenbag H, Gooskens V, Naafs B, Van der Kaaij R, Wiering N. Dermatological Preparations for the Tropics. Tesis. University of Groningen, The Netherlands.
11. Estupiñán S, Ávila S, López Y, Martínez S, Miranda Y, Ortegón A. Aislamiento e identificación de Pseudomonas sp. y Aeromonas sp. en aguas de piscinas públicas de Bogotá. NOVA. 2017; 15 (27): p. 25-29.
12. Corrales L, Antolinez D, Bohórquez J, Corredor A. Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. Nova. 2015; 13 (23): p. 55-81.
13. Commission BPH. E. coli (Escherichia coli). Infectious Disease Bureau. 2019;: p. 1-2.
14. Mejía J, Montoya R, Cortés C, Saavedra A. Levaduras Termotolerantes: Aplicaciones Industriales, Estrés Oxidativo y Respuesta Antioxidante. Información Tecnológica. 2016; 27(4): p. 3-16.
15. USP 4. Farmacopea de los Estados Unidos de América Maryland: The United States Pharmacopeial Convention; 2017.

Anexo 1. Valores del número más probable de microorganismos.

Combinaciones Observadas de Números de Tubos que Muestran Crecimiento en Cada Juego			NMP por g o por ml. de Producto	Límites de Confianza de 95%
Número de g o ml. de Producto por Tubo				
0,1	0,01	0,001		
0	0	0	<3	0-9,4
0	0	1	3	0,1-9,5
0	1	0	3	0,1-10
0	1	1	6,1	1,2-17
0	2	0	6,2	1,2-17
0	3	0	9,4	3,5-35
1	0	0	3,6	0,2-17
1	0	1	7,2	1,2-17
1	0	2	11	4-35
1	1	0	7,4	1,3-20
1	1	1	11	4-35
1	2	0	11	4-35
1	2	1	15	5-38
1	3	0	16	5-38
2	0	0	9,2	1,5-35
2	0	1	14	4-35
2	0	2	20	5-38
2	1	0	15	4-38
2	1	1	20	5-38
2	1	2	27	9-94
2	2	0	21	5-40
2	2	1	28	9-94
2	2	2	35	9-94
2	3	0	29	9-94
2	3	1	36	9-94
3	0	0	23	5-94
3	0	1	38	9-104
3	0	2	64	16-181
3	1	0	43	9-181
3	1	1	75	17-199
3	1	2	120	30-360
3	1	3	160	30-380
3	2	0	93	18-360
3	2	1	150	30-380
3	2	2	210	30-400
3	2	3	290	90-990
3	3	0	240	40-990
3	3	1	460	90-1980
3	3	2	1100	200-4000
3	3	3	>1100	